

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-113010

(P2017-113010A)

(43) 公開日 平成29年6月29日(2017.6.29)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 C 0 8 4
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N 15/00 G	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/7115 (2006.01)	A 6 1 K 31/7115	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	

審査請求 有 請求項の数 19 O L 外国語出願 (全 533 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-16882 (P2017-16882)	(71) 出願人	513084469
(22) 出願日	平成29年2月1日 (2017.2.1)		モデルナティエックス インコーポレイテッド
(62) 分割の表示	特願2015-553717 (P2015-553717) の分割		ModernaTX, Inc.
原出願日	平成25年9月30日 (2013.9.30)		アメリカ合衆国 02141 マサチューセッツ州 ケンブリッジ ベント ストリート 320
(31) 優先権主張番号	61/753,661	(74) 代理人	100105957
(32) 優先日	平成25年1月17日 (2013.1.17)		弁理士 恩田 誠
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100068755
(31) 優先権主張番号	61/754,159		弁理士 恩田 博宣
(32) 優先日	平成25年1月18日 (2013.1.18)	(74) 代理人	100142907
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 本田 淳
(31) 優先権主張番号	61/781,097	(74) 代理人	100152489
(32) 優先日	平成25年3月14日 (2013.3.14)		弁理士 中村 美樹
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細胞表現型の改変のためのシグナルセンサーポリヌクレオチド

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 目的とするポリペプチドをコードし、定義可能な疾患特徴または測定基準に沿ったより優れた選択性、プロファイリングまたは層別化を可能にする構造および／または化学的特徴を有する、核酸系化合物またはポリヌクレオチドをコードする核酸系化合物の提供。

【解決手段】 (i) S i a h E 3 ユビキチンタンパク質リガーゼ1 (S I A H 1) のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と、(i i) m i R-1 2 2 結合部位と、を含み、前記m i R-1 2 2 結合部位が、m i R-1 2 2 と完全な相補性を有する、ポリヌクレオチド。前記m i R-1 2 2 結合部位が、m i R-1 2 2-3 p 結合部位又はm i R-1 2 2-5 p 結合部位を含むことが好ましい、ポリヌクレオチド。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドであって、目的とする腫瘍学関連ポリペプチド、ならびに、配列番号 3 5 2 9 ~ 4 5 4 9、配列番号 5 5 7 1 ~ 6 5 9 1 およびそれらの機能的変異形のいずれかからなる群から選択される 1 つ以上のセンサー配列をコードする m R N A を含む、前記単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 2】

前記目的とする腫瘍学関連ポリペプチドが配列番号 1 3 2 1 ~ 2 4 8 7、6 6 1 1 ~ 6 6 1 6、7 3 5 5 ~ 7 3 6 1、7 4 9 0、7 4 9 2、7 4 9 3、7 5 1 2、7 5 1 4、7 5 1 6 および 7 5 1 7 からなる群から選択される、請求項 1 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

10

【請求項 3】

前記 m R N A が、少なくとも、配列番号 2 4 8 8 ~ 2 4 9 6、6 6 1 7 ~ 6 6 2 1、7 3 4 8 ~ 7 3 5 4、7 3 6 2 ~ 7 4 8 9、7 4 9 1、7 4 9 4、7 5 0 6、7 5 1 1 および 7 5 1 3 からなる群から選択される核酸配列のオープンリーディングフレームを含む、請求項 1 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 4】

前記オープンリーディングフレームがコドン最適化された、請求項 3 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 5】

前記 m R N A が 2 つの終止コドンを含む、請求項 1 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

20

【請求項 6】

前記 m R N A が第 1 の終止コドン「T G A」、ならびに、「T A A」、「T G A」および「T A G」からなる群から選択される第 2 の終止コドンを含む、請求項 1 に記載の単離合成シグナルセンサー単離ポリヌクレオチド。

【請求項 7】

前記 m R N A が、少なくとも 1 4 0 個のヌクレオチドのポリ A 尾部、三重鎖および A - G カルテットからなる群から選択される、結合ヌクレオシドの 3' 尾部配列を有する、請求項 1 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

30

【請求項 8】

前記 m R N A が、キャップ 0、キャップ 1、A R C A、イノシン、N1-メチルグアノシン、2'フルオログアノシン、7-デアザグアノシン、8-オキソグアノシン、2-アミノグアノシン、L N A-グアノシン、および 2-アジドグアノシンからなる群から選択される 5' 末端キャップを少なくとも 1 つ含む、請求項 1 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 9】

前記単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドが実質的に精製されている、請求項 1 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 10】

前記単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドが少なくとも 1 つの化学修飾を含む、請求項 1 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

40

【請求項 11】

前記少なくとも 1 つの化学修飾が 1-メチルシュドウリジンである、請求項 10 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 12】

化学修飾 5-メチルシチジンをさらに含む、請求項 11 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 13】

前記単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドが少なくとも 2 つの化学修飾を含む、

50

請求項 1 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 1 4】

前記修飾がヌクレオシドおよび／または前記ヌクレオチドの骨格のうちの 1 つ以上の上に位置する、請求項 1 3 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 1 5】

前記修飾がヌクレオシドおよび骨格結合の双方上に位置する、請求項 1 3 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 1 6】

前記修飾が前記骨格結合上に位置する、請求項 1 3 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 1 7】

単離シグナルセンサーポリヌクレオチドがコドン最適化された、請求項 1 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 1 8】

単離シグナルセンサーポリヌクレオチドが製剤化される、請求項 1 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 1 9】

目的とする前記ポリペプチドが、H I F サブユニット間の親和性および／または H I F 依存性遺伝子発現を調節する因子である、請求項 1 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 2 0】

前記 H I F サブユニットが配列番号 6 6 1 1 ～ 6 6 1 6 からなる群から選択される、請求項 1 9 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 2 1】

前記単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドが少なくとも 1 つの翻訳エンハンサー要素を含む、請求項 1 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 2 2】

単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドであって、

(a) 結合ヌクレオシドの第 1 の領域であって、前記第 1 の領域が、配列番号 1 3 2 1 ～ 2 4 8 7、6 6 1 1 ～ 6 6 1 6 および 7 3 5 5 ～ 7 3 6 1、7 4 9 0、7 4 9 2、7 4 9 3、7 5 1 2、7 5 1 4、7 5 1 6 および 7 5 1 7 からなる群から選択される、目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする、前記結合ヌクレオシドの第 1 の領域と、

(b) 前記第 1 の領域に対して 5' に位置する第 1 の隣接領域であって、

(i) 配列番号 1 3 2 1 ～ 2 4 8 7、6 6 1 1 ～ 6 6 1 6、7 3 5 5 ～ 7 3 6 1、7 4 9 0、7 4 9 2、7 4 9 3、7 5 1 2、7 5 1 4、7 5 1 6、7 5 1 7、配列番号 1 ～ 4、およびそれらの機能的変異形のうちのいずれかをコードする核酸のうちのいずれかの天然 5' 非翻訳領域 (U T R) からなる群から選択される結合ヌクレオシドの配列を含む前記第 1 の隣接領域と、

(c) 前記第 1 の領域に対して 3' に位置する第 2 の隣接領域であって、

(i') 配列番号 1 3 2 1 ～ 2 4 8 7、6 6 1 1 ～ 6 6 1 6、7 3 5 5 ～ 7 3 6 1、7 4 9 0、7 4 9 2、7 4 9 3、7 5 1 2、7 5 1 4、7 5 1 6、7 5 1 7、配列番号 5 ～ 2 1、およびそれらの機能的変異形のうちのいずれかをコードする核酸のうちのいずれかの天然 3' U T R からなる群から選択される結合ヌクレオシドの配列と、

(i i') 配列番号 3 5 2 9 ～ 4 5 4 9、配列番号 5 5 7 1 ～ 6 5 9 1 およびそれらの機能的変異形のいずれかからなる群から選択されて位置する 1 つ以上のセンサー配列と、

(i i i') 結合ヌクレオシドの 3' 尾部配列とを含む前記第 2 の隣接領域と、を含む、前記単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 2 3】

前記結合ヌクレオシドの第 1 の領域が核酸配列のオープンリーディングフレームを少な

10

20

30

40

50

くとも含み、前記核酸配列が配列番号 2 4 8 8 ~ 2 4 9 6、6 6 1 7 ~ 6 6 2 1、7 3 4 8 ~ 7 3 5 4、7 3 6 2 ~ 7 4 8 9、7 4 9 1、7 4 9 4、7 5 0 6、7 5 1 1 および 7 5 1 3 からなる群から選択される、請求項 2 2 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 2 4】

前記オープンリーディングフレームがコドン最適化された、請求項 2 3 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 2 5】

前記第 1 の領域が 2 つの終止コドンを含む、請求項 2 2 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

10

【請求項 2 6】

前記第 1 の領域が第 1 の終止コドン「T G A」、ならびに、「T A A」、「T G A」および「T A G」から成る群から選択される第 2 の終止コドンを含む、請求項 2 2 に記載の単離合成シグナルセンサー単離ポリヌクレオチド。

【請求項 2 7】

前記結合ヌクレオシドの 3' 尾部配列が、少なくとも 1 4 0 個のヌクレオチドのポリ A 尾部、三重鎖、およびポリ A-G カルテットからなる群から選択される、請求項 2 2 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 2 8】

前記第 1 の隣接領域が少なくとも 1 つの 5' 末端キャップをさらに含む、請求項 2 2 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

20

【請求項 2 9】

前記少なくとも 1 つの 5' 末端キャップが、キャップ 0、キャップ 1、A R C A、イノシン、N 1-メチル-グアノシン、2' フルオロ-グアノシン、7-デアザ-グアノシン、8-オキソ-グアノシン、2-アミノ-グアノシン、L N A-グアノシン、および、2-アジド-グアノシンからなる群から選択される、請求項 2 8 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 3 0】

単離シグナルセンサーポリヌクレオチドが実質的に精製されている、請求項 2 8 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

30

【請求項 3 1】

単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドが少なくとも 1 つの化学修飾を含む、請求項 2 2 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 3 2】

前記少なくとも 1 つの化学修飾が 1-メチルシュドウリジンである、請求項 3 1 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 3 3】

化学修飾 5-メチルシチジンをさらに含む、請求項 3 2 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 3 4】

前記第 1 の領域に少なくとも 2 つの化学修飾を含む、請求項 2 2 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

40

【請求項 3 5】

前記修飾が、ヌクレオシドおよび／または前記ヌクレオチドの骨格のうちの 1 つ以上の上に位置する、請求項 3 4 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 3 6】

前記修飾が、ヌクレオシドおよび骨格結合の双方上に位置する、請求項 3 4 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 3 7】

前記修飾が骨格結合上に位置する、請求項 3 4 に記載の単離合成シグナルセンサーポリ

50

ヌクレオチド。

【請求項 38】

前記単離シグナルセンサーポリヌクレオチドがコドン最適化された、請求項 22 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 39】

結合ヌクレオチドの前記第 1 の領域がコドン最適化された、請求項 38 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 40】

前記単離シグナルセンサーポリヌクレオチドが製剤化される、請求項 22 に記載の単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチド。

【請求項 41】

目的とする腫瘍学関連ポリペプチドの量を増大することで、必要な対象の疾患、障害および／または状態を治療する方法であって、前記対象に、前記腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドを投与することを含む、前記方法。

【請求項 42】

目的とする腫瘍学関連ポリペプチドの量を増大することで、必要な対象の腫瘍成長を軽減、除去または阻止する方法であって、前記対象に、前記腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドを投与することを含む、前記方法。

【請求項 43】

目的とする腫瘍学関連ポリペプチドの量を増大することで、必要な対象のがんの症状の少なくとも 1 つを軽減および／または改善する方法であって、前記対象に、前記腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドを投与することを含む、前記方法。

【請求項 44】

前記疾患、障害および／または状態が、副腎皮質癌、進行癌、肛門癌、再生不良性貧血、胆管癌、膀胱癌、骨がん、骨転移、脳腫瘍、脳がん、乳癌、小児癌、原発不明のがん、キャスルマン病、子宮頸癌、大腸／直腸癌、子宮内膜癌、食道癌、ユーイング腫瘍、眼癌、胆嚢癌、胃腸カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍、妊娠性絨毛性疾患、ホジキン病、カポジ肉腫、腎細胞癌、喉頭および下咽頭癌、急性リンパ性白血病、急性骨髄白血病、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄単球性白血病、肝臓癌、肝細胞癌（HCC）、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、肺カルチノイド腫瘍、皮膚のリンパ腫、悪性中皮腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成症候群、鼻腔および副鼻腔癌、鼻咽癌、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、口腔および中咽頭癌、骨肉腫、卵巣癌、膵臓癌、陰茎癌、下垂体部腫瘍、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺癌、成人軟組織の肉腫、基底および扁平細胞皮膚癌、黒色腫、小腸癌、胃癌、睾丸癌、喉頭癌、胸腺癌、甲状腺癌、子宮肉腫、陰癌、外陰癌、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、ウィルムス腫瘍ならびにがん治療によって引き起こされる二次発癌からなる群から選択される、請求項 41～43 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 45】

前記腫瘍成長が、副腎皮質癌、進行癌、肛門癌、再生不良性貧血、胆管癌、膀胱癌、骨がん、骨転移、脳腫瘍、脳がん、乳癌、小児癌、原発不明のがん、キャスルマン病、子宮頸癌、大腸／直腸癌、子宮内膜癌、食道癌、ユーイング腫瘍、眼癌、胆嚢癌、胃腸カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍、妊娠性絨毛性疾患、ホジキン病、カポジ肉腫、腎細胞癌、喉頭および下咽頭癌、急性リンパ性白血病、急性骨髄白血病、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄単球性白血病、肝臓癌、肝細胞癌（HCC）、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、肺カルチノイド腫瘍、皮膚のリンパ腫、悪性中皮腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成症候群、鼻腔および副鼻腔癌、鼻咽癌、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、口腔および中咽頭癌、骨肉腫、卵巣癌、膵臓癌、陰茎癌、下垂体部腫瘍、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺癌、成人軟組織の肉腫、基底および扁平細胞皮膚癌、黒色腫

10

20

30

40

50

、小腸癌、胃癌、睾丸癌、喉頭癌、胸腺癌、甲状腺癌、子宮肉腫、膣癌、外陰癌、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、ウィルムス腫瘍ならびにがん治療によって引き起こされる二次発癌からなる群から選択される疾患、障害および／または状態の結果である、請求項 44 に記載の方法。

【請求項 46】

前記単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドの投与が、がん細胞の数を低下させる、がん細胞を除去する、がん細胞の増加を阻止する、および／または、対象のがんの症状を緩和する、請求項 41～43 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 47】

前記がんの症状の少なくとも 1 つが、脱力感、疼痛および痛み、熱、疲労、体重減少、血液凝固、血液のカルシウム量の上昇、白血球数の低下、息切れ、めまい、頭痛、色素沈着過剰、黄疸、紅斑症、そう痒症、多毛症、排便習慣の変化、膀胱機能の変化、永続的な潰瘍、口内の白い斑点、舌上の白点、異常な出血または排泄、身体部分の肥大またはこぶ、消化不良、呑み込みにくさ、いぼまたはほくろの変化、新しい皮膚の変化ならびにしつこい咳およびしわがれ声から成る群から選択される、請求項 43 に記載の方法。

10

【請求項 48】

単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドが製剤化される、請求項 41～43 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 49】

前記単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドが 0.001 μg ～150 μg の総 1 日用量で投与される、請求項 48 に記載の方法。

20

【請求項 50】

投与が注射、局所投与、眼内投与または鼻腔内投与である、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 51】

投与が注射によってであり、前記注射が、皮内、皮下および筋肉内からなる群から選択される、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

投与が局所投与であり、前記局所投与が、クリーム、ローション、軟膏、ジェル、スプレー、溶液などからなる群から選択される、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 53】

30

組織または器官のがん細胞に細胞死を優先的に誘導する方法であって、

(a) 前記組織または器官を単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドに接触させることを含み、前記単離合成シグナルセンサーポリヌクレオチドは、

(i) 発現がアポトーシスまたは細胞死を引き起こす腫瘍学関連ポリペプチドおよび

(ii) マイクロ RNA の少なくとも 1 つのマイクロ RNA 結合部位であって、がん細胞での前記マイクロ RNA の発現が、正常な非がん細胞での前記マイクロ RNA の発現よりも低い、前記少なくとも 1 つのマイクロ RNA 結合部位をコードする、前記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

40

関連出願の相互参照

本出願は、2013 年 1 月 17 日出願の米国仮特許出願第 61,753,661 号、表題「Signal-Sensor Polynucleotides for the Alternation of Cellular Phenotypes and Microenvironments」、2013 年 1 月 18 日出願の米国仮特許出願第 61/754,159 号、表題「Signal-Sensor Polynucleotides for the Alternation of Cellular Phenotypes and Microenvironments」、2013 年 3 月 14 日出願の米国仮特許出願第 61/781,097 号、表題「Signal-Sensor Polynucleotides for the Alternation of Ce

50

l l u l a r P h e n o t y p e s a n d M i c r o e n v i r o n m e n t s」
、 2013年5月31日出願の米国仮特許出願第61/829,334号、表題「S i g n a l - S e n s o r P o l y n u c l e o t i d e s f o r t h e A l t e r n a t i o n o f C e l l u l a r P h e n o t y p e s a n d M i c r o e n v i r o n m e n t s」、2013年6月27日出願の米国仮特許出願第61/839,893号、表題「S i g n a l - S e n s o r P o l y n u c l e o t i d e s f o r t h e A l t e r n a t i o n o f C e l l u l a r P h e n o t y p e s a n d M i c r o e n v i r o n m e n t s」、2013年7月3日出願の米国仮特許出願第61/842,733号、表題「S i g n a l - S e n s o r P o l y n u c l e o t i d e s f o r t h e A l t e r n a t i o n o f C e l l u l a r P h e n o t y p e s a n d M i c r o e n v i r o n m e n t s」、および2013年7月23日出願の米国仮特許出願第61/857,304号、表題「S i g n a l - S e n s o r P o l y n u c l e o t i d e s f o r t h e A l t e r n a t i o n o f C e l l u l a r P h e n o t y p e s a n d M i c r o e n v i r o n m e n t s」に対する優先権を主張し、各々の内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

10

【0002】

配列表の参照

本出願は、配列表とともに電子書式で出願されている。M37PCT.txtと題される配列表ファイルは、2013年9月30日に作成され、9,748,473バイトの大きさである。この配列表の電子書式での情報は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

20

【0003】

発明の分野

本発明は、細胞表現型および微小環境の改変のための、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物およびmRNA分子の設計、調製、製造、および／または製剤化のための組成物、方法、プロセス、キット、ならびにデバイスに関する。

【背景技術】

【0004】

がんは、体内における制御不能の細胞分裂および成長を特徴とする疾患である。米国では、全女性のうちおよそ3分の1、および、全男性のうちおよそ半分の人が生涯のうちにがんを経験する。ポリペプチドは、がん細胞生物学（発癌、細胞周期抑制、DNA修復および血管新生）、治療（免疫療法、ホルモン操作、酵素阻害）、がんの種類の診断および決定（例えば、乳癌、前立腺癌、大腸癌および子宮頸癌用の分子マーカー）を含む、疾患のあらゆる方面に関わる。今日使用される化学療法および放射療法といった標準的な治療によってもたらされる望ましくない結果を考慮すると、疾患関連ペプチドおよびその機能の操作のための遺伝子療法は、疾患診断、治療および管理をさらに標的にしたアプローチを提供する。

30

【0005】

この目的のために、ある特定の修飾mRNA配列が、免疫応答を単に逃れる、避けるまたは低減するだけではない、それ以上の利点を伴う治療薬としての可能性を有することが以前に示されている。そのような研究は、公開された同時係属出願である、2011年8月5日出願された国際公開第WO2012019168号、2011年10月3日出願された国際公開第WO2012045082号、2011年10月3日出願された国際公開第WO2012045075号、2012年10月3日出願された国際公開第WO2013052523号、2012年12月14日出願された国際公開第WO2013090648号で詳細に記載されており、これらの内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

40

【0006】

抗体、ウイルス、獣医学における適用の分野および様々なインビボ環境における修飾ポ

50

リヌクレオチドの使用が調査されており、例えば、同時係属出願および共有出願である、2012年4月2日出願の米国仮特許出願第61/618,862号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Biologics」、2012年8月10日出願の米国仮特許出願第61/681,645号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Biologics」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737,130号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Biologics」、2012年4月2日出願の米国仮特許出願第61/618,866号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Antibodies」、2012年8月10日出願の米国仮特許出願第61/681,647号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Antibodies」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737,134号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Antibodies」、2012年4月2日出願の米国仮特許出願第61/618,868号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Vaccines」、2012年8月10日出願の米国仮特許出願第61/681,648号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Vaccines」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737,135号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Vaccines」、2012年4月2日出願の米国仮特許出願第61/618,870号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Therapeutic Proteins and Peptides」、2012年8月10日出願の米国仮特許出願第61/681,649号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Therapeutic Proteins and Peptides」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737,139号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Therapeutic Proteins and Peptides」、2012年4月2日出願の米国仮特許出願第61/618,873号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Secreted Proteins」、2012年8月10日出願の米国仮特許出願第61/681,650号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Secreted Proteins」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737,147号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Secreted Proteins」、2012年4月2日出願の米国仮特許出願第61/618,878号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Plasma Membrane Proteins」、2012年8月10日出願の米国仮特許出願第61/681,654号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Plasma Membrane Proteins」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737,152号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Plasma Membrane Proteins」、2012年4月2日出願の米国仮特許出願第61/618,885号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Cytoplasmic and Cytoskeletal Proteins」、2012年8

月10日出願の米国仮特許出願第61/681, 658号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Cytoplasmic and Cytoskeletal Proteins」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737, 155号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Cytoplasmic and Cytoskeletal Proteins」、2012年4月2日出願の米国仮特許出願第61/618, 896号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Intracellular Membrane Bound Proteins」、2012年7月5日出願の米国仮特許出願第61/668, 157号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Intracellular Membrane Bound Proteins」、2012年8月10日出願の米国仮特許出願第61/681, 661号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Intracellular Membrane Bound Proteins」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737, 160号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Intracellular Membrane Bound Proteins」、2012年4月2日出願の米国仮特許出願第61/618, 911号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Nuclear Proteins」、2012年8月10日出願の米国仮特許出願第61/681, 667号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Nuclear Proteins」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737, 168号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Nuclear Proteins」、2012年4月2日出願の米国仮特許出願第61/618, 922号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins」、2012年8月10日出願の米国仮特許出願第61/681, 675号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737, 174号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins」、2012年4月2日出願の米国仮特許出願第61/618, 935号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins Associated with Human Disease」、2012年8月10日出願の米国仮特許出願第61/681, 687号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins Associated with Human Disease」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737, 184号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins Associated with Human Disease」、2012年4月2日出願の米国仮特許出願第61/618, 945号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins Associated with Human Disease」、2012年8月10日出願の米国仮特許出願第61/681, 696号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins Associated with Human Disease」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737, 191号、表題「Modified Polynucleotides for the Producti

on of Proteins Associated with Human Disease」、2012年4月2日出願の米国仮特許出願第61/618,953号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins Associated with Human Disease」、2012年8月10日出願の米国仮特許出願第61/681,704号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins Associated with Human Disease」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737,203号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins Associated with Human Disease」、2012年8月10日出願の米国仮特許出願第61/681,720号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Cosmetic Proteins and Peptides」、2012年12月14日出願の米国特許仮出願第61/737,213号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Cosmetic Proteins and Peptides」、2012年8月10日出願の米国特許仮出願第61/681,742号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Oncology-Related Proteins and Peptides」、2013年3月9日出願の国際出願第PCT/US2013/030062号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Biologics and Proteins Associated with Human Disease」、2013年3月9日出願の米国特許出願第13/791,922号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Biologics and Proteins Associated with Human Disease」、2013年3月9日出願の国際出願第PCT/US2013/030063号、表題「Modified Polynucleotides」、国際出願第PCT/US2013/030064号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Secreted Proteins」、2013年3月9日出願の米国特許出願第13/791,921号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Secreted Proteins」、2013年3月9日出願の国際出願第PCT/US2013/030059号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Membrane Proteins」、2013年3月9日出願の国際出願第PCT/US2013/030066号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Cytoplasmic and Cytoskeletal Proteins」、2013年3月9日出願の国際出願第PCT/US2013/030067号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Nuclear Proteins」、2013年3月9日出願の国際出願第PCT/US2013/030060号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins」、2013年3月9日出願の国際出願第PCT/US2013/030061号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins Associated with Human Disease」、2013年3月9日出願の米国特許出願第13/791,910号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Proteins Associated w

ith Human Disease」、2013年3月9日出願の国際出願第PCT/US第2013/030068号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Cosmetic Proteins and Peptides」、および、2013年3月9日出願の国際出願第PCT/US2013/030070号、表題「Modified Polynucleotides for the Production of Oncology-Related Proteins and Peptides」、2013年3月15日出願の国際特許出願第PCT/US2013/031821号、表題「In Vivo Production of Proteins」に開示されており、各々の内容はその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0007】

修飾ポリヌクレオチドの製剤化および送達が、例えば、同時係属出願および共有出願中である、2012年12月14日出願の国際公開第WO2013090648号、表題「Modified Nucleoside, Nucleotide, Nucleic Acid Compositions」および2012年12月14日出願の米国公開第20130156849号、表題「Modified Nucleoside, Nucleotide, Nucleic Acid Compositions」で説明されており、各々の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0008】

次世代の治療剤はまた、がんの複雑な細胞微小環境にも対処しなくてはならず、構造上または機能上のいずれかにせよ、細胞、組織、器官または患者を層別化する能力を有していなくてはならない。

20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

本発明は、目的とするポリペプチドをコードし、定義可能な疾患特徴または測定基準に沿ったより優れた選択性、プロファイリングまたは層別化を可能にする構造および／または化学的特徴を有する、核酸系化合物またはポリヌクレオチドをコードする核酸系化合物（例えば、シグナルセンサーポリヌクレオチド）を提供することによって、この必要性に対処する。

30

【課題を解決するための手段】

【0010】

目的とする腫瘍学関連ポリペプチドを少なくとも1つコードするシグナルセンサーポリヌクレオチド分子の組成物、設計、調製、製造、および／または製剤化方法、プロセス、キット、ならびにデバイスが本明細書に記載される。そのようなシグナルセンサーポリヌクレオチドは、化学的に修飾されたmRNA（mmRNA）分子であり得る。

【0011】

本発明は、翻訳された時に死または生存シグナルを送るよう機能する、目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする領域を含む、単離シグナルセンサーポリヌクレオチドを提供する。そのような死または生存シグナルには、(i) 1つ以上のタンパク質、核酸または非コード核酸の発現を改変（増大または低下）するもの、(ii) 細胞内の生体分子の結合特性を改変するもの、および／または、(iii) 治療上効果のある方法で細胞の微小環境を乱すものが包含される。

40

【0012】

任意で、シグナルセンサーポリヌクレオチドはまた、隣接領域に、1つ以上のセンサー配列もコードしてもよい。そのようなセンサー配列は、細胞、組織または器官の微小環境を「感知」し、センサー配列と細胞、組織または器官の微小環境の相互作用次第で、シグナルセンサーポリヌクレオチドに改変した発現または半減期プロファイル（増大または低下）を与えるよう機能する。

【0013】

50

1つの態様では、結合ヌクレオシドの第1の領域、前記第1の領域に対して5'に位置する第1の隣接領域および前記第1の領域に対して3'に位置する第2の隣接領域を含む、シグナルセンサーポリヌクレオチドが本明細書で提供される。第1の領域は、限定はしないが配列番号1321~2487、6611~6616ならびに7355~7361、7490、7492、7493、7512、7514、7516および7517といった目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードし得、第1の隣接領域は、限定はしないが、配列番号1321~2487、6611~6616、7355~7361、7490、7492、7493、7512、7514、7516、7517、配列番号1~4およびそれらの機能的変異形のいずれかをコードする核酸のいずれかの天然5'非翻訳領域(UTR)といった、結合ヌクレオシドの配列を含み得る。第1の領域は、配列番号2488~2496、6617~6621、7348~7354、7362~7489、7491、7494、7506、7511および7513からなる群から選択される核酸配列のオープンリーディングフレームを少なくとも含み得る。

10

【0014】

第2の隣接領域は、限定はしないが、配列番号1321~2487、6611~6616、7355~7361、7490、7492、7493、7512、7514、7516、7517、配列番号5~21およびそれらの機能的変異形のいずれかをコードする核酸のいずれかの天然3'UTRといった結合ヌクレオシドの配列、ならびに、限定はしないが配列番号3529~4549、配列番号5571~6591およびそれらの機能的変異形といった1つ以上のセンサー配列が位置する。シグナルセンサーポリヌクレオチドはまた、結合ヌクレオシドの3'尾部配列を含み得る。

20

【0015】

別の態様では、目的とする腫瘍学関連ポリペプチドならびに限定はしないが配列番号3529~4549、配列番号5571~6591およびそれらの機能的変異形といったセンサー配列を1つ以上コードするmRNAを含むシグナルセンサーポリヌクレオチドが本明細書で提供される。目的とする腫瘍学関連ポリペプチドは、配列番号1321~2487、6611~6616、7355~7361、7490、7492、7493、7512、7514、7516および7517であり得るが、これらに限定はされない。mRNAは配列番号2488~2496、6617~6621、7348~7354、7362~7489、7491、7494、7506、7511および7513からなる群から選択される核酸配列のオープンリーディングフレームを少なくとも1つ含み得る。

30

【0016】

シグナルセンサーポリヌクレオチドは、1、2または3つ以上の終止コドンを含み得る。1つの態様では、シグナルセンサーポリヌクレオチドは、2つの終止コドンを含む。非制限的な例として、第1の終止コドンは「TGA」であり、第2の終止コドンは「TAA」「TGA」および「TAG」からなる群から選択される。別の態様では、シグナルセンサーポリヌクレオチドは、3つの終止コドンを含む。

【0017】

シグナルセンサーポリヌクレオチドは、制限はしないが、少なくとも140個のヌクレオチドのポリA尾部、三重鎖、ポリA-Gカルテットといった、結合ヌクレオシドの3'尾部配列を有し得る。

40

【0018】

シグナルセンサーポリヌクレオチドは、限定はしないが、キャップ0、キャップ1、ARCA、イノシン、N1-メチルグアノシン、2'フルオログアノシン、7-デアザグアノシン、8-オキソグアノシン、2-アミノグアノシン、LNA-グアノシンおよび2-アジドグアノシンといった5'キャップを有し得る。

【0019】

1つの態様では、シグナルセンサーポリヌクレオチドは、限定はしないが、1つ以上のヌクレオシドおよび/またはヌクレオチドの骨格の上に配置される修飾といった、少なくとも1つの化学修飾を含み得る。一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチ

50

ドは、シュードウリジン類似体を含み、例えば、1-カルボキシメチル-シュードウリジン、1-プロピニル-シュードウリジン、1-タウリノメチル-シュードウリジン、1-タウリノメチル-4-チオ-シュードウリジン、1-メチル-シュードウリジン ($m^1 \psi$)、1-メチル-4-チオ-シュードウリジン ($m^1 s^4 \psi$)、4-チオ-1-メチル-シュードウリジン、3-メチル-シュードウリジン ($m^3 \psi$)、2-チオ-1-メチル-シュードウリジン、1-メチル-1-デアザ-シュードウリジン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-シュードウリジン、ジヒドロシュードウリジン、2-チオ-ジヒドロシュードウリジン、2-メトキシウリジン、2-メトキシ-4-チオ-ウリジン、4-メトキシ-シュードウリジン、4-メトキシ-2-チオ-シュードウリジン、N1-メチル-シュードウリジン、1-メチル-3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)シュードウリジン ($acp^3 \psi$) および 2'-O-メチル-シュードウリジン (ψm) が挙げられるが、これらに限定されない。別の実施形態では、シグナルセンサーポリヌクレオチドは、シュードウリジン類似体 1-メチルシュードウリジンを含む。さらに別の実施形態では、シグナルセンサーポリヌクレオチドは、シュードウリジン類似体 1-メチルシュードウリジンおよび修飾ヌクレオシド 5-メチルシチジンを含む。

10

【0020】

別の態様では、シグナルセンサーポリヌクレオチドは、限定はしないが、1つ以上のヌクレオシドおよび／またはヌクレオチドの骨格の上に配置される修飾といった、化学修飾を少なくとも2つ含み得る。非制限的な例として、シグナルセンサーポリヌクレオチドは、化学修飾 1-メチルシュードウリジンおよび 5-メチルシチジンを含む。

20

【0021】

シグナルセンサーポリヌクレオチドは、限定はしないが TEE-001~TEE-705 といった、少なくとも1つの翻訳エンハンサー要素 (TEE) を含み得る。

【0022】

1つの態様では、シグナルセンサーポリヌクレオチドは、限定はしないが、配列番号 6611~6616 といった、HIF サブユニット間の親和性および／または HIF 依存性遺伝子の発現を調節する因子をコードする。

【0023】

シグナルセンサーポリヌクレオチドは、精製および／または製剤化され得る。

【0024】

シグナルセンサーポリヌクレオチドを使用し、本発明は、目的とする腫瘍学関連ポリペプチドの量を増大することで、治療を必要とする対象の疾患、障害および／または状態を治療する方法を提供し、当該方法には、当該対象に、前記腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離シグナルセンサーポリヌクレオチドを投与することを含む。疾患、障害および／または状態には、副腎皮質癌、進行癌、肛門癌、再生不良性貧血、胆管癌、膀胱癌、骨がん、骨転移、脳腫瘍、脳がん、乳癌、小児癌、原発不明のがん、キャスルマン病、子宮頸癌、大腸／直腸癌、子宮内膜癌、食道癌、ユーイング腫瘍、眼癌、胆嚢癌、胃腸カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍、妊娠性絨毛性疾患、ホジキン病、カボジ肉腫、腎細胞癌、喉頭および下咽頭癌、急性リンパ性白血病、急性骨髄白血病、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄単球性白血病、肝臓癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、肺カルチノイド腫瘍、皮膚のリンパ腫、悪性中皮腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成症候群、鼻腔および副鼻腔癌、鼻咽腔癌、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、口腔および中咽頭癌、骨肉腫、卵巣癌、膵臓癌、陰茎癌、下垂体部腫瘍、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺癌、成人軟組織の肉腫、基底および扁平細胞皮膚癌、黒色腫、小腸癌、胃癌、睾丸癌、喉頭癌、胸腺癌、甲状腺癌、子宮肉腫、陰癌、外陰癌、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、ウィルムス腫瘍ならびにがん治療によって引き起こされる二次発癌が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0025】

本発明は、目的とする腫瘍学関連ポリペプチドの量を増大することで、必要とする対象の腫瘍の成長を軽減、除去または防止する方法を提供し、当該方法は、前記腫瘍学関連ポ

50

リペプチドをコードする単離シグナルセンサーポリヌクレオチドを、前記対象に投与することを含む。腫瘍の成長は、限定はしないが、副腎皮質癌、進行癌、肛門癌、再生不良性貧血、胆管癌、膀胱癌、骨がん、骨転移、脳腫瘍、脳がん、乳癌、小児癌、原発不明のがん、キャスルマン病、子宮頸癌、大腸／直腸癌、子宮内膜癌、食道癌、ユーイング腫瘍、眼癌、胆嚢癌、胃腸カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍、妊娠性絨毛性疾患、ホジキン病、カポジ肉腫、腎細胞癌、喉頭および下咽頭癌、急性リンパ性白血病、急性骨髄白血病、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄単球性白血病、肝臓癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、肺カルチノイド腫瘍、皮膚のリンパ腫、悪性中皮腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成症候群、鼻腔および副鼻腔癌、鼻咽腔癌、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、口腔および中咽頭癌、骨肉腫、卵巣癌、膵臓癌、陰茎癌、下垂体部腫瘍、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺癌、成人軟組織の肉腫、基底および扁平細胞皮膚癌、黒色腫、小腸癌、胃癌、睾丸癌、喉頭癌、胸腺癌、甲状腺癌、子宮肉腫、陰癌、外陰癌、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、ウィルムス腫瘍ならびにがん治療によって引き起こされる二次発癌といった、疾患、障害および／または状態に伴い得、または、当該疾患、障害および／または状態の結果であり得る。

10

【0026】

本発明は、目的とするポリペプチドの量を増大することで、必要とする対象のがんの少なくとも1つの症状を軽減および／または改善する方法を提供し、当該方法は、前記腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離シグナルセンサーポリヌクレオチドを前記対象に投与することを含む。症状の非制限的な例としては、脱力感、疼痛および痛み、熱、疲労、体重減少、血液凝固、血液のカルシウム量の上昇、白血球数の低下、息切れ、めまい、頭痛、色素沈着過剰、黄疸、紅斑症、そう痒症、多毛症、排便習慣の変化、膀胱機能の変化、永続的な潰瘍、口内の白い斑点、舌上の白点、異常な出血または排出、身体部分の肥大またはこぶ、消化不良、呑み込みにくさ、いぼまたはほくろの変化、新しい皮膚の変化ならびにしつこい咳およびしわがれ声が挙げられる。

20

【0027】

本発明は、組織または器官のがん細胞で細胞死を優先的に誘導する方法を提供し、当該方法は、組織または器官を、その発現によってアポトーシスまたは細胞死が誘導される腫瘍学関連ポリペプチド、および、がん細胞でのマイクロRNAの発現が正常な非がん細胞でのマイクロRNAの発現よりも低いマイクロRNAのマイクロRNA結合部位を少なくとも1つコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドに接触させることを含む。

30

【0028】

シグナルセンサーポリヌクレオチドは、0.001 μ gと150 μ gとの間の総1日用量で投与され得る。シグナルセンサーポリヌクレオチドの投与は注射、局所投与、眼内投与または鼻腔内投与であり得る。1つの態様では、投与は、限定はしないが、皮内、皮下および筋肉内であり得る。別の態様では、投与は、限定はしないが、クリーム、ローション、軟膏、ジェル、スプレー、溶液などを用いて局所的であり得る。

【0029】

本発明の様々な実施形態の詳細が、以下の発明を実施するための形態において説明される。本発明の他の特長、目的、および利点は、発明を実施するための形態および図面、ならびに特許請求の範囲から明らかになる。

40

【0030】

前述および他の目的、特長、および利点は、添付の図面に図示されるように、本発明の特定の実施形態の以下の記述から明らかになり、その図面において、同様の参照文字は、異なる図面を通して同一の部分を目指す。図面は、必ずしも原寸に比例しておらず、むしろ、本発明の様々な実施形態の原理を例示説明することに重点が置かれている。

【図面の簡単な説明】

【0031】

【図1】本発明の一次構築物の概略図である。

【図2】ポリヌクレオチドのシグナルセンサー要素を示す、本発明の一次構築物の第2の

50

隣接領域の拡大概略図である。

【図3】哺乳動物のアポトーシス誘導因子ショート (A I F s h) 修飾mRNAのA I F s hタンパク質のゲルプロファイルである。図3AはA I F s hの予測されるサイズを示す。図3BはA I F s hの予測されるサイズを示す。

【図4】哺乳動物のS i a h E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1 (S I A H 1) 修飾mRNAのS I A H 1タンパク質のゲルプロファイルである。図4AはS I A H 1の予測されるサイズを示す。図4BはS I A H 1の予測されるサイズを示す。

【図5】哺乳動物の構成的活性型 (C. A.) カスパーゼ3修飾mRNAのC. A. カスパーゼ3 (逆カスパーゼ3 (R e v -カスパーゼ3) としても知られる) タンパク質のゲルプロファイルである。図5AはC. A. カスパーゼ3の予測されるサイズを示す。図5BはC. A. カスパーゼ3の予測されるサイズを示す。

【図6】哺乳動物のグラニュリシン修飾mRNAのグラニュリシンタンパク質のゲルプロファイルである。図6Aはグラニュリシンの予測されるサイズを示す。図6Bはグラニュリシンの予測されるサイズを示す。

【図7】C. A. カスパーゼ3およびC. A. カスパーゼ6のウェスタンブロットである。図7Aは、5-メチルシチジンおよび1-メチルシュードウリジンで完全に修飾、または、1-メチルシュードウリジンで完全に修飾されたC. A. カスパーゼ3修飾mRNAのタンパク質を示す。図7Bは、5-メチルシチジンおよび1-メチルシュードウリジンで完全に修飾、または、1-メチルシュードウリジンで完全に修飾される、C. A. カスパーゼ6修飾mRNAのタンパク質を示す。

【発明を実施するための形態】

【0032】

治療薬、診断、試薬の分野、および生物学的アッセイにおいて、例えば、核酸の細胞内翻訳およびコードされた目的とするポリペプチドの産生を引き起こすために、インビトロ、インビボ、インサイツ、またはエクスピボにかかわらず、細胞内に核酸、例えば、リボ核酸 (RNA) を送達することができることは大変興味深いことである。非組み込みシグナルセンサーポリヌクレオチドの送達および機能が特に重要である。

【0033】

1個以上の目的とするポリペプチドをコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドの組成物 (薬学的組成物を含む)、ならびにその設計、調製、製造、および/または製剤化方法が本明細書に記載される。本明細書に記載の目的とするポリペプチドをコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドを選択、設計、および/または利用するためのシステム、プロセス、デバイス、およびキットも提供される。

【0034】

この目的のために、本発明のポリペプチドは、「シグナルセンサーポリヌクレオチド」と呼ばれ、ポリヌクレオチド治療薬 (例えば、mRNA) の層別化、プロファイリングおよび/または個別化に特に役立し、特定の細胞型、疾患または細胞の微小環境または生物学的プロファイルに合わせて調節される、新しいクラスのポリヌクレオチド治療薬によってコードされる。

【0035】

がんは多様な遺伝子発現パターン、物理化学的環境および転移性または運動性挙動を示すことが知られており、HanahanおよびWeinberg (Cell、2011、144:646-674) によると、がんには6つの特徴がある。これらには、増殖性シグナル伝達を維持すること、成長抑制因子を回避すること、細胞死に対して抵抗すること、複製性不死を可能とすること、血管新生を誘導することならびに浸潤および転移を活性化することが含まれる。これらのがんの特徴または機能によって、がんは生存、増殖および播種し、それぞれは、がんの種類によって、異なる時に異なるパターンで生じる。

【0036】

正常な細胞に害を及ぼさず、がん細胞を選択的に標的にするがん治療薬の開発は、腫瘍学の各領域で最も重要な進行中の取り組みである。本発明のポリヌクレオチドは、そのよ

10

20

30

40

50

うな治療薬を代表し、例えばがん細胞または正常な細胞といった細胞型によって、細胞系、シグナル増殖（生存）または死を選択的に安定化または不安定化させ、細胞周期または老化を引き起こし、および／または、免疫応答を活性化または回避する能力を有する。

【0037】

本発明に従い、シグナルセンサーポリヌクレオチド治療薬を用いて、がん細胞の生存優位性または特徴を不安定にし得る（したがって当該治療薬は細胞傷害性となる）。一実施形態において、診断的な試みには、代謝状態（低酸素性、アシドーシス性）、アポトーシス性対生存性の遺伝子プロファイル、細胞周期対老化の段階、免疫状態および存在するストロマ因子を含む、がんのプロファイリング（事前に必要とはされないが）が挙げられるだろう。

10

【0038】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチドは、がん細胞のトランスクリプトームを攪乱する。この攪乱は1つ以上のシグナル伝達または発現事象に影響を及ぼし得る。例えば、コードされた腫瘍学関連ポリペプチドは、がんに関連する遺伝子の発現を誘導または強化すると分かっている転写因子の上流で作用し得る。そのような転写因子を阻害する（結合または隔離減少または分解のいずれかで）腫瘍学関連ポリペプチドをコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドの送達はしたがって、がん細胞のトランスクリプトームを改変し得、治療上の効果を有すだろう。そのような転写因子の1つにH I F-1 アルファがある。H I F-1 アルファと結合できる、または、その発現がより少ないH I F-1 アルファにつながるタンパク質をコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドは、H I F-1 アルファ制御性遺伝子、例えばV E G F AまたはS L C 2 A 1を効果的に抑制し、がんを不安定化させるだろう。

20

【0039】

一実施形態において、がんのプロファイルが、シグナルセンサーポリヌクレオチドが選択される前に評価され得る。そのようなプロファイリングデータは、どの関連ポリペプチドを送達するかを選択に関する情報を与えるであろう。アポトーシス、複製能または代謝シグネチャーといった特徴クラスで分類される遺伝子発現のプロファイリングによって、ポリペプチドに関する動的不安定性スコアリングおよびシグナルセンサーポリヌクレオチドの治療域の最適化を可能にするであろう。本明細書で使用されるとき、「動的不安定性指数」は、正常な対応する細胞と比較して、インビトロのがん細胞で、腫瘍学関連標的タンパク質を50%増大するのに十分なシグナルセンサーポリヌクレオチドの用量を指す。

30

【0040】

プロファイリングはまた、アポトーシスクラスに関してカスパーゼ依存性遺伝子発現とカスパーゼ非依存性遺伝子発現との間の区別といった特徴クラス内でなされ得る。または、プロファイリングはアポトーシス、老化（複製能）および代謝クラスの遺伝子プロファイリングといった、複数のクラスにわたって実施され得る。

【0041】

一実施形態において、本明細書で説明されるシグナルセンサーポリヌクレオチドを用いて、細胞内のポリペプチドの発現および／または量を低減し得る。非制限的な例として、様々な濃度でのM Y C阻害剤A、M Y C阻害剤B、M Y C阻害剤CまたはM Y C阻害剤Dの効力を決定するために、M Y C阻害剤A、M Y C阻害剤B、M Y C阻害剤CまたはM Y C阻害剤Dを、H e p 3 B細胞上で使用し得る（例えば実施例55を参照）。

40

【0042】

一実施形態において、本明細書に記載されるシグナルセンサーポリヌクレオチドは、細胞傷害性または細胞保護的ないずれかの治療効果を、例えば正常な細胞対がん性の細胞といった特定の細胞に向けることができる。

【0043】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチドは腫瘍学関連ポリペプチドだけでなくセンサー配列もコードするであろう。センサー配列としては、例えば、マイクロR N A結合部位、転写因子結合部位、内因性核酸結合分子のための偽受容体として作用す

50

るよう操作した人工的な結合部位が挙げられる。「センサー領域」は、少なくとも1つのセンサー配列を含むシグナルセンサーポリヌクレオチドの結合ヌクレオチドの領域である。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドは、1つ以上のセンサー領域を有し得る。

【0044】

一実施形態において、1つ以上のセンサー領域が、第1の隣接領域に位置し得る。非制限的な例として、第1の隣接領域のセンサー領域は、少なくとも1つのセンサー配列を含み得る。センサー配列は、 $m i r - 1 2 2$ 、 $m i r - 1 4 2 - 3 p$ 、 $m i r - 1 4 2 - 5 p$ 、 $m i r - 1 4 6$ 、その断片または変異形であり得るが、これらに限定されない。別の非制限的な例としては、第1の隣接領域のセンサー領域は、 $m i r - 1 2 2$ 配列といった少なくとも1つのセンサー配列を含み得る。 $m i r - 1 2 2$ 配列は、 $a m i r - 1 2 2$ 結合部位、 $m i r - 1 2 2$ 種配列、種配列を有さない $m i r - 1 2 2$ 結合部位またはそれらの組み合わせであり得るが、これらに限定されない。

10

【0045】

別の実施形態では、1つ以上のセンサー領域が第2の隣接領域に位置し得る。非制限的な例として、第2の隣接領域のセンサー領域は $m i r - 1 2 2$ 、 $m i r - 1 4 2 - 3 p$ 、 $m i r - 1 4 2 - 5 p$ 、 $m i r - 1 4 6$ 、その断片または変異形といったセンサー配列を含み得る。別の非制限的な例として、第2の隣接領域のセンサー領域は、3つのセンサー配列を含み得る。センサー配列は、 $m i r - 1 2 2$ 結合部位、 $m i r - 1 2 2$ 種配列、種配列を有さない $m i r - 1 2 2$ 結合部位またはそれらの組み合わせといった $m i r - 1 2 2$ 配列であり得るが、これらに限定されない。さらに別の非制限的な例として、第2の隣接領域のセンサー領域は、3' UTRに位置し、センサー領域は、 $m i r - 1 2 2$ 配列であるセンサー配列を含み得る。 $m i r - 1 2 2$ 配列は、 $m i r - 1 2 2$ 結合部位、 $m i r - 1 2 2$ 種配列、種配列を有さない $m i r - 1 2 2$ 結合部位またはそれらの組み合わせであり得るが、これらに限定されない。

20

【0046】

一実施形態において、2つ以上のセンサー領域が、限定はしないが、結合ヌクレオチドの第1の領域、第1の隣接領域および／または第2の隣接領域といったシグナルセンサーポリヌクレオチドの同一領域に位置し得る。非制限的な例として、2つ以上のセンサー領域は、第2の隣接領域に位置する。さらに別の非制限的な例として、3つのセンサー領域が第2の隣接領域で3' UTRに位置する。3つのセンサー領域には、 $m i r - 1 2 2$ 結合部位、 $m i r - 1 2 2$ 種配列、種配列を有さない $m i r - 1 2 2$ 結合部位またはそれらの組み合わせが含まれ得る。

30

【0047】

別の実施形態では、2つ以上のセンサー領域が、限定はしないが、結合ヌクレオチドの第1の領域、第1の隣接領域および／または第2の隣接領域といったシグナルセンサーポリヌクレオチドの異なる領域に位置し得る。非制限的な例として第1のセンサー領域は第1の隣接領域に位置し、第2のセンサー領域は第2の隣接領域に位置する。センサー領域は、同一のセンサー配列または異なるセンサー配列を含み得る。

【0048】

一実施形態において、開始コドンがセンサー領域内に位置する。

40

【0049】

一実施形態において、センサー領域は2つ以上のセンサー配列を含み得る。センサー配列は同一または異なり得る。

【0050】

一実施形態において、センサー領域は、互いに異なるが、同一の $m i r$ 結合部位上に基づき得るセンサー配列を2つ以上含み得る。非制限的な例として、センサー領域は、 $m i R$ 結合部位配列を少なくとも1つ、および、種を除いた $m i r$ 結合部位配列を少なくとも1つ含み得る。別の非制限的な例として、センサー領域は少なくとも1つの $m i R$ 結合部位配列および少なくとも1つの $m i R$ 種配列を含み得る。さらに別の非制限的な例として、センサー領域は種を除いた $m i r$ 結合部位配列を少なくとも1つ、および、 $m i R$ 種配

50

列を少なくとも1つ含み得る。

【0051】

別の実施形態では、センサー領域は、A B A B A BまたはA A B B A A B B A A B BまたはA B C A B C A B Cまたは1回、2回または4回以上繰り返されるその変異形といったパターンのセンサー配列を2つ以上含み得る。これらのパターンで、各文字A、BまたはCは異なるm i R配列を表す。

【0052】

さらに別の実施形態では、シグナルセンサーポリヌクレオチドは、2つ以上のセンサー領域を含み得、各センサー領域は1つ以上のセンサー配列を有する。非制限的な例として、センサー配列は、A B A B A BまたはA A B B A A B B A A B BまたはA B C A B C A B Cまたは各センサー領域で1回、2回または4回以上繰り返されるその変異形といったパターンであり得る。別の非制限的な例として、センサー配列は、A B A B A BまたはA A B B A A B B A A B BまたはA B C A B C A B Cまたはシグナルセンサーポリヌクレオチド全体にわたって1回、2回または4回以上繰り返されるその変異形といったパターンであり得る。これらのパターンで、各文字A、BまたはCは異なるm i R配列を表す。非制限的な例として、第1のセンサー領域はパターンA B Aのセンサー配列を有し得、第2のセンサー領域はパターンB A Bのセンサー配列を有し得、その結果シグナルセンサーポリヌクレオチドのセンサー配列の全体のパターンはA B A B A Bである。別の非制限的な例として、第1のセンサー領域はセンサー配列A Aを有し得、第2のセンサー領域はセンサー配列B Bを有し得、第3のセンサー領域はセンサー配列A Aを有し得、第4のセンサー領域はセンサー配列B Bを有し得、その結果シグナルセンサーポリヌクレオチドのセンサー配列の全体のパターンはA A B B A A B Bである。

【0053】

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドのセンサー配列は、天然m R N Aの3-U T Rおよび／または5' U T Rに1つ以上の制御配列を含み得、当該制御配列は、異なる組織および細胞でのm R N A安定性および翻訳を制御する。そのようなc i s調節要素としては、C i s-R N P（リボ核タンパク質）／R B P（R N A結合タンパク質）調節要素、A U豊富な領域A U E、構造化したステムループ、構造的分解要素（C D E）、G C-豊富および他の構造化したm R N Aモチーフが挙げられ得るが、これらに限定されない（P a r k e r B J e t a l. , G e n o m e R e s e a r c h, 2011、2011、1929-1943、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。例えば、C D Eは、ロキン（R o q u i n）タンパク質との相互作用によってm R N A分解を媒介する制御モチーフのクラスである。特に、進行および炎症の調節因子をコードしてマクロファージ内のサイトカイン生産を制限するC D Eが多くm R N Aに見られる（L e p p e k K e t a l. , C e l l, 2013、153、869-881、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0054】

一実施形態において、特定のC D Eが、細胞または組織内でポリペプチドの分解が所望される際に、シグナルセンサーポリヌクレオチドに導入され得る。特定のC D Eがまた、タンパク質発現を持続のため細胞または組織内でより安定したm R N Aを維持するために、シグナルセンサーポリヌクレオチドから取り除かれてもよい。

【0055】

一実施形態において、細胞または組織内のm i R N Aの有無を決定するためにがん細胞または組織のマикроRNA（m i R N A）プロファイリングを実施して、シグナルセンサーポリヌクレオチドでセンサー配列として使用する適切なマクロRNAを決定し得る。

【0056】

マクロRNA遺伝子制御は、限定はしないが、周辺配列の種、配列の種類（例えば、異種性、同種性および人工的）、周辺配列の調節要素および／または周辺配列での構造要素といった、マクロRNAの周辺の配列から影響を受け得る。マクロRNAは5' U

10

20

30

40

50

TRおよび／または3'UTRの影響を受け得る。非制限的な例として、非ヒト3'UTRは、同一配列の種類のヒト3'UTRと比較すると、目的とするポリペプチドの発現に対するマイクロRNA配列の制御効果を増大し得る。

【0057】

5'-UTRの他の調節要素および／または構造要素が、マイクロRNA媒介性遺伝子制御に影響を及ぼし得る。そのような例の1つに5'UTRの構造化したIRES（配列内リボソーム進入部位）があり、これは、翻訳伸長因子の結合がタンパク質翻訳を開始するために必要である。EIF4A2が5'UTRのこの二次的に構造化された要素に結合することがマイクロRNA媒介性遺伝子発現には必要である（Meijer H A et al., Science, 2013, 340, 82-85、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。センサーシグナルポリヌクレオチドはさらに、マイクロRNA媒介性遺伝子制御を強化するためにこの構造化した5'UTRを含むように修飾され得る。

【0058】

少なくとも1つのマイクロRNA部位を本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドの3'UTR内に操作し得る。この文脈では、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10またはそれ以上のマイクロRNA部位を本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドの3'UTR内に操作してもよい。一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチドに組み込まれたマイクロRNA部位は、同一または異なるマイクロRNA部位であり得る。別の実施形態では、シグナルセンサーポリヌクレオチドに組み込まれたマイクロRNA部位は、体内の同一または異なる組織を標的し得る。非制限的な例として、シグナルセンサーポリヌクレオチドの3'UTRにおける組織、細胞型または疾患特異的マイクロRNA結合部位の導入を通して、特定の細胞型（肝細胞、骨髄系細胞、内皮細胞、がん細胞など）の発現の度合いを低下し得る。

【0059】

一実施形態において、マイクロRNA部位は、3'UTRの5'末端付近、3'UTRの5'末端と3'末端の間のおよそ真ん中、および／または、3'UTRの3'末端付近に操作され得る。非制限的な例として、マイクロRNA部位は3'UTRの5'末端付近、および、3'UTRの5'末端と3'末端の間のおよそ真ん中に操作され得る。別の非制限的な例として、マイクロRNA部位は、3'UTRの3'末端付近および3'UTRの5'末端と3'末端の間のおよそ真ん中に操作され得る。さらに別の非制限的な例として、マイクロRNA部位は、3'UTRの5'末端付近および3'UTRの3'末端付近に操作され得る。

【0060】

別の実施形態では、3'UTRは4つのマイクロRNA部位を含み得る。マイクロRNA部位は、完全なマイクロRNA部位、マイクロRNA種配列および／または種配列を有さないマイクロRNA結合部位であり得る。

【0061】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチドを、対象の異なる組織で発現するマイクロRNA部位を含むよう操作し得る。非制限的な例として、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドをmiR-192およびmiR-122を含むように操作し、対象の肝臓および腎臓のシグナルセンサーポリヌクレオチドの発現を制御し得る。別の実施形態では、シグナルセンサーポリヌクレオチドを、同一組織に対して2つ以上のマイクロRNA部位を含むよう操作し得る。例えば、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドを、miR-17-92およびmiR-126を含むように操作し、対象の内皮細胞のシグナルセンサーポリヌクレオチドの発現を制御し得る。

【0062】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドがコードする腫瘍学関連ポリペプチドに関連する治療域およびまたは発現差異を、変化させ得る。例えば、がん細胞（または正常な細胞）のmiRNAシグネチャーを利用してがん細胞で死シグナル

がより多く発現される（または、正常な細胞では生存シグナル）ようにシグナルセンサーポリヌクレオチドを設計し得る。がん細胞が特定のmiRNAをより低い量で発現する箇所では、そのmiRNA（または複数のmiRNA）のための結合部位をコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドがより多く発現されるだろう。したがって、シグナルセンサーポリヌクレオチドがコードする腫瘍学関連ポリペプチドは、細胞死を引き起こすまたは誘導するタンパク質として選択される。同一miRNAをより多く発現する近隣の非がん細胞では、3'UTRにコードされる結合部位すなわち「センサー」に結合するmiRNAの影響のためにシグナルセンサーポリヌクレオチドがより少ない量で発現され得るので、コードされる死シグナルによる影響はより小さいであろう。逆に、miRNAの発現量ががん細胞で多いがん細胞および非がん細胞を含む組織に細胞生存または細胞保護シグナルが送達され得、結果として、がん細胞により少ない生存シグナルが送達され、正常な細胞により多くの生存シグネチャーが送達される。前のパラダイムに従って、異なるシグナルを有する複数のシグナルセンサーポリヌクレオチドを設計および投与し得る。

10

【0063】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチドの発現を、少なくとも1つのセンサー配列をシグナルセンサーポリヌクレオチドに組み込み、シグナルセンサーポリヌクレオチドを製剤化することで、制御し得る。非制限的な例として、miR-122結合部位を組み込み、カチオン性脂質DLiN-KC2-DMAを含む脂質ナノ粒子に製剤化されたポリヌクレオチドを有することで、ポリヌクレオチドを同所腫瘍に標的し得る（例えば、実施例56Aおよび56Bに記載の実験を参照）。

20

【0064】

異なる細胞型のマイクロRNAの発現パターンを理解することで、シグナルセンサーポリヌクレオチドを、特定の細胞型において、または、特定の生物学的状況下のみで、より標的化した発現のために操作することができる。組織特異的マイクロRNA結合部位の導入によって、組織、または、がんといった生物学的状況の文脈でのタンパク質発現に最適であり得るシグナルセンサーポリヌクレオチドを設計し得る。

【0065】

操作したシグナルセンサーポリヌクレオチドを用いて、関連した細胞株で形質移入実験を実施し得、タンパク質の生産を、形質移入後の様々な時点でアッセイし得る。例えば、細胞を異なるマイクロRNA結合部位操作核酸またはシグナルセンサーポリヌクレオチドで形質移入し得、ELISAキットを関連したタンパク質に用いて、形質移入から6時間、12時間、24時間、48時間、72時間および7日後に生産されたタンパク質をアッセイする。インビボ実験もマイクロRNA結合部位操作分子を用いて実施され、製剤化したシグナルセンサーポリヌクレオチドの組織特異的発現の変化を検査し得る。

30

【0066】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドは、抗原を提示する細胞による抗原提示を弱めるために、少なくとも1つのマイクロRNAを含み得る。マイクロRNAは、完全なマイクロRNA配列、マイクロRNA種配列、種配列を有さないマイクロRNA配列またはそれらの組み合わせであり得る。非制限的な例として、シグナルセンサーポリヌクレオチドに組み込まれたマイクロRNAは、造血系に特異的であり得る。別の非制限的な例として、抗原提示を弱めるために本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドに組み込まれたマイクロRNAは、miR-142-3pである。

40

【0067】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドは、目的とする細胞で、コードされたポリペプチドの発現を低下させるために、少なくとも1つのマイクロRNAを含み得る。非制限的な例として、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドは、肝臓で目的とするコードされたポリペプチドの発現を低下させるために、少なくとも1つのmiR-122結合部位を含み得る。別の非制限的な例として、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドは、少なくとも1つのmiR-142-3p結合部位、miR-142-3p種配列、種を有さないmiR-142-3p結合部位、miR-142-5p

50

結合部位、m i R - 1 4 2 - 5 p 種配列、種を有さないm i R - 1 4 2 - 5 p 結合部位、m i R - 1 4 6 結合部位、m i R - 1 4 6 種配列および／または種配列を有さないm i R - 1 4 6 結合部位を含み得る（例えば、実施例 4 7 および実施例 6 0 に記載される実験を参照）。

【0068】

本発明に従うと、本明細書で説明されるシグナルセンサーポリヌクレオチドは、当該技術分野の他のポリペプチドコード分子の欠陥を避けるように修飾され得る。したがって、本実施形態では、シグナルセンサーポリヌクレオチドは修飾シグナルセンサーポリヌクレオチドまたは一次構築物、修飾mRNAまたはmmRNAと呼ぶ。

【0069】

組織における安定性および／もしくは排除、受容体の取り込みおよび／もしくは動態、組成物による細胞到達、翻訳機構との関わり、mRNA半減期、翻訳の効率、免疫回避、タンパク質産生能力、分泌の効率（適用される場合）、血液循環への到達可能性、タンパク質半減期、ならびに／または細胞の状態、機能、および／もしくは活性の調節のうちの1つ以上を改善するように設計された、目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドポリヌクレオチド、一次構築物、および／またはmmRNAが本明細書の一部分に提供される。

【0070】

I. 本発明の組成物

本発明は、1個以上の目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする核酸分子、具体的には、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および／またはmmRNAを提供する。具体的には、本発明はがんまたはがんに関連した疾患、障害に有用なシグナルセンサーポリヌクレオチドを企図する。本明細書で使用されるとき、「シグナルセンサーポリヌクレオチド」は、翻訳された時に細胞（がん細胞または非がん細胞）に「シグナル」を送り、がん細胞に有害または正常な細胞に有益であるか、がん細胞に有害かつ正常な細胞に有利であるかのいずれかである治療効果を生物体にもたらす、1つ以上の目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする核酸転写物のことである。シグナルセンサーポリヌクレオチドはさらに、ポリヌクレオチドの微小環境を「感知」し、（a）翻訳されるペプチドまたはタンパクに関連する機能または表現型の結果、（b）シグナルセンサーポリヌクレオチドの発現量、および／または、双方を改変する配列（翻訳可能または不可能）を含んでいてもよい。

【0071】

「核酸」という用語は、その最も広い意味において、ヌクレオチドのポリマーを含む任意の化合物および／または物質を含む。これらのポリマーは、多くの場合、シグナルセンサーポリヌクレオチドと称される。本発明の例示の核酸またはシグナルセンサーポリヌクレオチドには、リボ核酸（RNA）、デオキシリボ核酸（DNA）、トレオース核酸（TNA）、グリコール核酸（GNA）、ペプチド核酸（PNA）、ロックド核酸（LNA、 β -D-リボ配置を有するLNA、 α -L-リボ配置を有する α -LNA（LNAのジアステレオマー）、2'-アミノ官能化を有する2'-アミノ-LNA、および2'-アミノ官能化を有する2'-アミノ- α -LNAを含む）、またはこれらのハイブリッドが含まれるが、これらに限定されない。

【0072】

好ましい実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチドまたは核酸分子は、メッセンジャーRNA（mRNA）である。本明細書で使用するとき、「メッセンジャーRNA（mRNA）」という用語は、目的とするポリペプチドをコードし、かつ翻訳されてインビトロ、インビボ、インサイツ、またはエクスピボで、コードされた目的とするポリペプチドを産生することができる任意のシグナルセンサーポリヌクレオチドを指す。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドは、mRNAまたはいずれかの核酸分子であり得、化学的に修飾されていてもよく、または、されていなくてもよい。

【0073】

従来、mRNA分子の主要成分には、少なくともコーディング領域、5' UTR、3' UTR、5' キャップ、およびポリA尾部が含まれる。この野生型モジュール構造を基に、本発明は、モジュール組織を維持するが、いくつかの実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチドが導入される部分への細胞の自然免疫応答の実質的な誘導の欠如を含む、有用な特性をポリヌクレオチドに付与する1つ以上の構造および／もしくは化学修飾または改変を含むシグナルセンサーポリヌクレオチドまたは一次RNA構築物を提供することによって従来のmRNA分子の機能の範囲を拡大する。したがって、合成的であり得る本発明の修飾mRNA分子は、「mmRNA」と称される。本明細書で使用するとき、「構造的」特徴または修飾は、2個以上の結合ヌクレオチドが、ヌクレオチド自体への著しい化学修飾なく、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAにおいて挿入、欠失、複製、反転、またはランダム化される特徴または修飾である。化学結合が必然的に破壊および再形成されて構造修飾をもたらすため、構造修飾は、化学的性質のものであり、したがって、化学修飾である。しかしながら、構造修飾は、異なるヌクレオチド配列をもたらす。例えば、ポリヌクレオチド「ATCG」は、「AT-5meC-G」に化学修飾され得る。同一のポリヌクレオチドは、「ATCG」から「ATCCCG」に構造修飾され得る。ここで、ジヌクレオチド「CC」が挿入されており、ポリヌクレオチドへの構造修飾をもたらす。

10

【0074】

シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNA構造

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドは、本明細書で証明されるように核酸系治療薬を用いた効果的なポリペプチド産生の既存の問題の打開に役立つそれらの機能的および／または構造的設計特徴において野生型mRNAと区別される。

20

【0075】

図1は、本発明の代表的なシグナルセンサー一次構築物100を示す。本明細書で使用するとき、「一次構築物」または「一次mRNA構築物」という用語は、1個以上の目的とするポリペプチドをコードし、その中でコードされる目的とするポリペプチドが翻訳されることを可能とするのに十分な構造的および／または化学的特徴を保持する、シグナルセンサーポリヌクレオチド転写物を指す。シグナルセンサー一次構築物は、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドであり得る。構造または化学修飾された場合、一次構築物は、mmRNAと称され得る。

30

【0076】

図1を再び参照して、ここで、一次構築物100は、第1の隣接領域104および第2の隣接領域106に隣接する結合ヌクレオチド102の第1の領域を含有する。本明細書で使用するとき、「第1の領域」は、「コーディング領域」もしくは「コード領域」、または単に「第1の領域」と称され得る。この第1の領域は、コードされた目的とする腫瘍学関連ポリペプチドを含み得るが、これに限定されない。目的とする腫瘍学関連ポリペプチドは、その5'末端に、シグナルペプチド配列領域103によってコードされた1つ以上のペプチドシグナル配列を含み得る。隣接領域104は、1つ以上の完全または不完全な5' UTR配列を含む結合ヌクレオチドの領域を含み得る。隣接領域104は、5'末端キャップ108も含み得る。第2の隣接領域106は、1つ以上の完全または不完全な3' UTRを含む結合ヌクレオチドの領域を含み得る。隣接領域106は、3'尾部配列110および3' UTR120も含み得る。

40

【0077】

第1の領域102と第1の隣接領域104の5'末端の架橋は、第1の操作領域105である。従来、この操作領域は、開始コドンを含む。あるいは、この操作領域は、開始コドンを含む任意の翻訳開始配列またはシグナルを含み得る。

【0078】

第1の領域102と第2の隣接領域106の3'末端の架橋は、第2の操作領域107である。従来、この操作領域は、終止コドンを含む。あるいは、この操作領域は、終止コドンを含む任意の翻訳開始配列またはシグナルを含み得る。本発明に従って、複数の連続

50

【 0 0 7 9 】

10

20

【 0 0 8 1 】

30

40

50

00、1、000～2、000、1、000～3、000、1、000～5、000、1、000～7、000、1、000～10、000、1、000～25、000、1、000～50、000、1、000～70、000、1、000～100、000、1、500～3、000、1、500～5、000、1、500～7、000、1、500～10、000、1、500～25、000、1、500～50、000、1、500～70、000、1、500～100、000、2、000～3、000、2、000～5、000、2、000～7、000、2、000～10、000、2、000～25、000、2、000～50、000、2、000～70、000、および2、000～100、000個)を含む。

【0083】

本発明に従って、第1および第2の隣接領域は、独立して、15～1、000ヌクレオチド長の範囲（例えば、30、40、45、50、55、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、および900を超えるヌクレオチド長、または少なくとも30、40、45、50、55、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、および1、000ヌクレオチド長）であり得る。

【0084】

本発明に従って、尾部配列は、0～500ヌクレオチド長の範囲（例えば、少なくとも60、70、80、90、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、または500ヌクレオチド長）であり得る。尾部領域がポリA尾部である場合、長さは、ポリA結合タンパク質結合の単位で、またはその関数として決定され得る。この実施形態において、ポリA尾部は、ポリA結合タンパク質の少なくとも4個の単量体に結合するのに十分な長さである。ポリA結合タンパク質の単量体は、一続きの約38個のヌクレオチドに結合する。したがって、約80個のヌクレオチドおよび160個のヌクレオチドのポリA尾部が機能的であることが観察されている。

【0085】

本発明に従って、キャッピング領域は、単一のキャップまたはキャップを形成する一連のヌクレオチドを含み得る。この実施形態において、キャッピング領域は、1～10、例えば、2～9、3～8、4～7、1～5、5～10、または少なくとも2、もしくは10以下のヌクレオチド長であり得る。いくつかの実施形態において、キャップは不在である。

【0086】

本発明に従って、第1および第2の操作領域は、3～40、例えば、5～30、10～20の範囲、15、または少なくとも4、もしくは30以下のヌクレオチド長であり得、開始コドンおよび／または終止コドンに加えて、1つ以上のシグナルおよび／または制限配列を含み得る。

【0087】

環状シグナルセンサーポリヌクレオチド

本発明に従って、シグナルセンサー一次構築物またはmmRNAは、環化またはコンカテマー化されて翻訳コンピテント分子を生成し、ポリA結合タンパク質と5'末端結合タンパク質との間の相互作用を補助し得る。環化またはコンカテマー化の機構は、少なくとも3つの異なる経路、すなわち1)化学的経路、2)酵素的経路、および3)リボザイム触媒経路を通して生じ得る。新たに形成された5'／3'連結は、分子内または分子間であり得る。

【0088】

第1の経路において、核酸の5'末端および3'末端は、接近しているときに分子の5'末端と3'末端との間に新たな共有結合を形成する化学反応基を含有し得る。有機溶媒中で、合成mRNA分子の3'末端上の3'-アミノ末端ヌクレオチドが5'-NHSEステル部分上で求核攻撃を経て新たな5'／3'アミド結合を形成するように、5'末

10

20

30

40

50

端は、NH S-エステル反応基を含有し得、3'末端は、3'-アミノ末端ヌクレオチドを含有し得る。

【0089】

第2の経路において、T4 RNAリガーゼを用いて、5'-リン酸化核酸分子を核酸の3'-ヒドロキシル基に酵素結合させて、新たなホスホロジエステル結合を形成することができる。反応の例において、1 μgの核酸分子が、製造業者のプロトコルに従って、1~10単位のT4 RNAリガーゼ(New England Biolabs, Ipswich, MA)と37℃で1時間インキュベートされる。連結反応が、5'領域および3'領域の両方と並んで塩基対合して、酵素的連結反応を補助することができる分裂したオリゴヌクレオチドの存在下で生じ得る。

10

【0090】

第3の経路において、cDNA鋳型の5'末端または3'末端のいずれかは、インビトロ転写中に、結果として生じる核酸分子が核酸分子の5'末端を核酸分子の3'末端に連結することができる活性リボザイム配列を含有し得るように、リガーゼリボザイム配列をコードする。リガーゼリボザイムは、I群イントロン、I群イントロン、デルタ肝炎ウイルス、ヘアピンリボザイムに由来し得るか、またはSELEX(試験管内進化法、systematic evolution of ligands by exponential enrichment)によって選択され得る。リボザイムリガーゼ反応は、0~37℃の温度で1~24時間かかり得る。

20

【0091】

シグナルセンサーポリヌクレオチド多量体

本発明に従って、複数のはっきりと異なるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、3'末端で修飾されたヌクレオチドを用いて3'末端を介して結合され得る。化学的複合体形成を用いて、細胞への送達の化学量論を制御することができる。例えば、グリオキシル酸回路酵素、イソクエン酸リアーゼ、およびリンゴ酸シンターゼは、HepG2細胞に1:1の比率で供給されて細胞脂肪酸の代謝を変化させ得る。この比率は、一方のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA種に3'-アジド末端ヌクレオチドを用い、かつ反対側のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA種にC5-エチニルまたはアルキニル含有ヌクレオチドを用いて化学結合シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを化学結合させることによって制御され得る。この修飾されたヌクレオチドは、製造業者のプロトコルに従って末端トランスフェラーゼ(New England Biolabs, Ipswich, MA)を用いて転写後に添加される。3'末端修飾ヌクレオチドの添加後、これら2個のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA種は、銅の存在下または不在下において水溶液中で合わせられて、文献内に記載のクリック化学機構を介して新たな共有結合を形成し得る。

30

【0092】

別の例において、3個以上のシグナルセンサーポリヌクレオチドが官能化リンカー分子を用いて結合され得る。例えば、官能化サッカリド分子は、複数の化学反応基(SH-、NH₂-、N₃等)を含有して3'-官能化シグナルセンサーポリヌクレオチド分子上の同族部分(すなわち、3'-マレイミドエステル、3'-NH S-エステル、アルキニル)と反応するように化学修飾され得る。この修飾されたサッカリド上の反応基の数は、化学量論の様式で制御されて、複合体化されたシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの化学量論比を直接制御し得る。

40

【0093】

シグナルセンサーポリヌクレオチド複合体および組み合わせ

腫瘍学関連タンパク質産生をさらに亢進するために、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド一次構築物またはmmRNAは、他のポリヌクレオチド、腫瘍学関連ポリペプチド、染料、挿入剤(例えば、アクリジン)、架橋剤(例えば、プソラレン、マイトマイシンC)、ポルフィリン(TPPC4、テキサフィリン、サフィリン)、多環芳香族炭化

50

水素（例えば、フェナジン、ジヒドロフェナジン）、人工エンドヌクレアーゼ（例えば、EDTA）、アルキル化剤、リン酸塩、アミノ、メルカプト、PEG（例えば、PEG-40K）、MPEG、[MPEG]₂、ポリアミノ、アルキル、置換アルキル、放射標識マーカー、酵素、ハプテン（例えば、ビオチン）、輸送／吸収促進剤（例えば、アスピリン、ビタミンE、葉酸）、合成リボヌクレアーゼ、タンパク質、例えば、糖タンパク質、またはペプチド、例えば、コリガンドに特異的親和性を有する分子、または抗体、例えば、癌細胞、内皮細胞、または骨細胞等の特定の細胞型に結合する抗体、ホルモンおよびホルモン受容体、非ペプチド種、例えば、脂質、レクチン、炭水化物、ビタミン、共同因子、または薬物と複合体化されるように設計され得る。

【0094】

複合体化は、安定性および／または半減期の増加をもたらし得、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを、細胞、組織、または生物体の特定の部位に標的化するとき特に有用であり得る。

【0095】

本発明に従って、シグナルセンサーポリヌクレオチドmmRNAまたは一次構築物は、RNAi剤、siRNA、shRNA、miRNA、miRNA結合部位、アンチセンスRNA、リボザイム、触媒DNA、tRNA、三重らせん形成を誘導するRNA、アプタマー、もしくはベクター等のうちの1つ以上とともに投与され得るか、またはこれらをさらにコードし得る。

【0096】

一実施形態において、本明細書で説明されるシグナルセンサーポリヌクレオチドは、制限はしないが、米国特許出願第20130216561号に記載される部分といった、様々ながん細胞を標的する部分と複合体化し得、当該出願の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。シグナルセンサーポリヌクレオチドとがん標的化部分との間の結合は、複合体の効力を高め得る酸切断可能結合であり得、例えば、限定はしないが、米国特許出願第20130216561号に記載される結合が挙げられ、当該出願の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0097】

二機能性シグナルセンサーポリヌクレオチド

本発明の一実施形態は、二機能性シグナルセンサーポリヌクレオチド（例えば、二機能性一次構築物または二機能性mmRNA）である。その名称が示すように、二機能性シグナルセンサーポリヌクレオチドは、少なくとも2つの機能を有するか、または少なくとも2つの機能の能力があるシグナルセンサーポリヌクレオチドである。これらの分子は、慣例により、多機能性とも称され得る。

【0098】

二機能性シグナルセンサーポリヌクレオチドの複数の機能は、RNAによってコードされ得る（この機能は、コードされた産物が翻訳されるまで現れ得ない）か、またはポリヌクレオチド自体の特性であり得る。これは、構造的または化学的であり得る。二機能性修飾シグナルセンサーポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチドと共有結合的または静電的に関連した機能を含み得る。さらに、これら2つの機能は、シグナルセンサーポリヌクレオチドおよび別の分子の複合体との関連において提供され得る。

【0099】

二機能性シグナルセンサーポリヌクレオチドは、抗増殖性腫瘍学関連ペプチドをコードし得る。これらのペプチドは、線状、環状、拘束、またはランダムコイルであり得る。これらは、アプタマー、シグナル伝達分子、リガンド、またはこれらの模倣物もしくはミメティックとして機能し得る。抗増殖性ペプチドは、翻訳されると、3～50アミノ酸長であり得る。それらは、5～40、10～30、または約15アミノ酸長であり得る。それらは、一本鎖、多本鎖、または分岐鎖であり得、翻訳されると、複合体、凝集体、または任意の多ユニット構造を形成し得る。

【0100】

非コードシグナルセンサーポリヌクレオチド

本明細書に記載されるように、部分的または実質的に翻訳可能ではない配列、例えば、非コード領域を有するシグナルセンサーポリヌクレオチドおよび一次構築物が提供される。そのような非コード領域は、シグナルセンサー一次構築物の「第1の領域」であり得る。あるいは、非コード領域は、第1の領域以外の領域であり得る。そのような分子は、通常翻訳されないが、リボソームタンパク質または転移RNA (tRNA) 等の1つ以上の翻訳機構成分への結合および隔離のうちの1つ以上によってタンパク質産生に影響を及ぼし、それによって、細胞におけるタンパク質発現を効果的に低下させるか、細胞における1つ以上の経路またはカスケードを調節し得、それが次いでタンパク質レベルを変化させる。シグナルセンサーポリヌクレオチドおよび／または一次構築物は、1個以上の長い非コードRNA (lncRNA) もしくはlinRNA) もしくはその部分、低分子核RNA (snRNA)、マイクロRNA (miRNA)、低分子干渉RNA (siRNA)、またはPwi干渉RNA (piRNA) を含有し得るか、あるいはこれらをコードし得る。

【0101】

栄養要求性シグナルセンサーポリヌクレオチド

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドは、栄養要求性であり得る。本明細書で使用されるとき、「栄養要求性」という表現は、腫瘍学関連タンパク質発現が実質的に阻止されるまたは低下するように、空間的または時間的な合図に応答して自身の分解または不活性化を引き起こす、助長するまたは誘導する少なくとも1つの特長を含むシグナルセンサーポリヌクレオチドを指す。そのような空間的または時間的な合図としては、特定の組織もしくは器官または細胞環境といった、翻訳されるシグナルセンサーポリヌクレオチドの位置が挙げられる。温度、pH、イオン強度、含水量などに関わる合図もさらに企図される。

【0102】

一実施形態において、その特長は、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドの末端領域に位置する。非制限的な例として、選択された組織での栄養要求性mRNAの発現が実質的に阻止されるまたは低下するように、栄養要求性mRNAは、末端領域に、選択された組織で発現するmiRに結合するmiR結合部位を含み得る。この目的のために例えば、miR-122結合部位を含む栄養要求性mRNAは、肝臓に局在される場合はタンパク質を生産せず、なぜなら、miR-122が肝臓で発現され、miRの結合は栄養要求性mRNAの破壊を実行するからである。非制限的な例として、HEK293細胞はmiR-122を発現せず、その結果、HEK293でmiR-122配列を有するシグナルセンサーポリヌクレオチドの下方制御はほとんど一切ないが、miR-122を発現する肝細胞に関しては、肝細胞でmiR-122配列を有するシグナルセンサーポリヌクレオチドの下方制御があるだろう (例えば実施例19に記載される実験を参照)。別の非制限的な例として、少なくとも1つのmiR-122結合部位、種配列を有さないmiR-122結合部位またはmiR-122結合部位をコードし、有するシグナルセンサーポリヌクレオチドを投与する前に、miR-122の量を、HeLa細胞、初代培養ヒト肝細胞および初代培養ラット肝細胞で測定し得る。投与後、シグナルセンサーポリヌクレオチドの発現を測定して、シグナルセンサーポリヌクレオチドのmiR-122の弱化効果を決定し得る (例えば、実施例41、42、43、57、58および59で説明される実験を参照)。さらに別の非制限的な例として、異なる3' UTRのmiR-122結合部位、miR-122種または種を有さないmiR-122結合部位の効果を、限定はしないが、一番高い弱化効果といった所望する結果のための適切なUTRを決定するために評価し得る (例えば、実施例46に記載される研究を参照)。

【0103】

一実施形態において、栄養要求性mRNAの分解または不活性化は、pHの変化に反応する特長を含み得る。非制限的な例として、栄養要求性mRNAは、5.0~6.0のpHまたは6.0~6.5のpHといった、pH4.5~8.0の間のpHを有する環境で

引き起こされ得る。pHの変化は、0.1単位、0.2単位、0.3単位、0.4単位、0.5単位、0.6単位、0.7単位、0.8単位、0.9単位、1.0単位、1.1単位、1.2単位、1.3単位、1.4単位、1.5単位、1.6単位、1.7単位、1.8単位、1.9単位、2.0単位、2.1単位、2.2単位、2.3単位、2.4単位、2.5単位、2.6単位、2.7単位、2.8単位、2.9単位、3.0単位、3.1単位、3.2単位、3.3単位、3.4単位、3.5単位、3.6単位、3.7単位、3.8単位、3.9単位、4.0単位またはそれ以上の変化であり得る。

【0104】

別の実施形態では、栄養要求性mRNAの分解または不活性化は、温度の変化によって引き起こされ得る、または、誘導され得る。非制限的な例として、室温から体温の温度の変化である。温度の変化は、1℃未満、5℃未満、10℃未満、15℃未満、20℃未満、25℃未満または25℃超であり得る。

10

【0105】

さらに別の実施形態では、栄養要求性mRNAの分解または不活性化は、対象のイオンの量の変化によって引き起こされ得る、または、誘導され得る。イオンは、制限しないが、ナトリウムイオン、カリウムイオン、塩素イオン、カルシウムイオン、マグネシウムイオンおよび／またはリン酸イオンといった、カチオンまたはアニオンであり得る。

【0106】

目的とする腫瘍学関連ポリペプチド

本発明に従って、シグナルセンサー一次構築物は、1個以上の目的とする腫瘍学関連ポリペプチドまたはその断片をコードするように設計される。目的とする腫瘍学関連ポリペプチドは、全ポリペプチド、複数のポリペプチド、またはポリペプチドの断片を含み得るが、これらに限定されず、これらは、独立して、1個以上の核酸、複数の核酸、核酸の断片、または前述のうちのいずれかの変異形によってコードされ得る。本明細書で使用するとき、「目的とする腫瘍学関連ポリペプチド」という用語は、選択されて本発明のシグナルセンサー一次構築物においてコードされる任意のポリペプチドを指す。本明細書で使用するとき、「ポリペプチド」とは、ほとんどの場合ペプチド結合によって結合されるアミノ酸残基（天然または非天然）のポリマーを意味する。この用語は、本明細書で使用するとき、任意の大きさ、構造、または機能を有するタンパク質、ポリペプチド、およびペプチドを指す。いくつかの例において、コードされたポリペプチドが約50個のアミノ酸よりも小さい場合、このポリペプチドは、ペプチドと称される。ポリペプチドがペプチドである場合、これは、少なくとも約2、3、4、または少なくとも5アミノ酸残基長である。したがって、ポリペプチドは、遺伝子産物、天然に存在するポリペプチド、合成ポリペプチド、相同体、オルソログ、パラログ、前述の断片および他の等価物、変異形、ならびに類似体を含む。ポリペプチドは、単一の分子であり得るか、または二量体、三量体、もしくは四量体等の多分子複合体であり得る。それらは、抗体またはインスリン等の一本鎖または多本鎖ポリペプチドも含み得、会合または結合され得る。ほとんどの場合、ジスルフィド結合が多本鎖ポリペプチドに見られる。「ポリペプチド」という用語は、1個以上のアミノ酸残基が対応する天然に存在するアミノ酸の人工化学的類似体であるアミノ酸ポリマーにも適用され得る。

20

30

40

【0107】

「ポリペプチド変異形」という用語は、それらのアミノ酸配列が天然配列または参照配列とは異なる分子を指す。アミノ酸配列変異形は、天然配列または参照配列と比較して、アミノ酸配列内のある特定の位置に置換、欠失、および／または挿入を有し得る。通常、変異形は、天然配列または参照配列と少なくとも約50%の同一性（相同性）を有し、好ましくは、それらは、天然配列または参照配列と少なくとも約80%、より好ましくは、少なくとも約90%同一（相同）である。

【0108】

いくつかの実施形態において、「変異形模倣物」が提供される。本明細書で使用するとき、「変異形模倣物」という用語は、活性化配列を模倣する1個以上のアミノ酸を含有す

50

るものである。例えば、グルタミン酸塩は、ホスホロトレオニンおよび／またはホスホローセリンの模倣物の役割を果たし得る。あるいは、変異形模倣物は、その模倣物を含有する産物の失活または不活性化をもたらし得、例えば、フェニルアラニンは、チロシンの不活性化置換としての機能を果たし得るか、またはアラニンは、セリンの不活性化置換としての機能を果たし得る。

【0109】

「相同性」は、アミノ酸配列に適用されるとき、最大の相同パーセントを得るために、配列を整列させ、必要に応じてギャップを導入した後の第2の配列のアミノ酸配列内の残基と同一の候補アミノ酸配列内の残基の割合(%)と定義される。整列させるための方法およびコンピュータプログラムは、当技術分野で周知である。相同性が同一性パーセント

10

【0110】

「相同体」とは、ポリペプチド配列に適用されるとき、第2の種の第2の配列に対してかなりの割合の同一性を有する他の種の対応する配列を意味する。

【0111】

「類似体」は、親または出発ポリペプチドの特性のうちの1つ以上を依然として維持する、1つ以上のアミノ酸改変、例えば、アミノ酸残基の置換、付加、または欠失によって異なるポリペプチド変異形を含むよう意図される。

【0112】

本発明は、変異形および誘導体を含むポリペプチド系のいくつかの種類の組成物を企図する。これらは、置換、挿入、欠失、および共有結合変異形および誘導体を含む。「誘導体」という用語は、「変異形」という用語と同義に使用されるが、概して、任意の方法で参照分子または出発分子に対して修飾され、かつ／または変化した分子を指す。

20

【0113】

したがって、参照配列、具体的には、本明細書に開示の腫瘍学関連ポリペプチド配列に対して置換、挿入および／または付加、欠失、ならびに共有結合修飾を含有する腫瘍学関連ポリペプチドをコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドが、本発明の範囲内に包含される。例えば、配列タグまたはアミノ酸、例えば、1個以上のリジンが、本発明のペプチド配列に付加され得る(例えば、N末端またはC末端で)。配列タグは、ペプチド精製または局在化に使用され得る。リジンを用いて、ペプチド溶解度を増加させるか、またはビオチン化を可能にする。あるいは、ペプチドまたはタンパク質のアミノ酸配列のカルボキシおよびアミノ末端領域に位置するアミノ酸残基が任意に欠失されて、切断配列を提供し得る。あるいは、ある特定のアミノ酸(例えば、C末端またはN末端残基)は、配列の使用に応じて、例えば、可溶性のより大きい配列の一部として配列の発現時に欠失され得るか、または固体支持体に結合され得る。

30

【0114】

「置換変異形」とは、ポリペプチドについて言及するとき、天然配列または出発配列内の少なくとも1個のアミノ酸残基が除去され、その場所の同一の位置に異なるアミノ酸が挿入されたものである。これらの置換は、単一置換であり、分子中の1個のアミノ酸のみが置換されたものであり得、またはこれらの置換は、多置換であり、同一の分子中の2個以上のアミノ酸が置換されたものであり得る。

40

【0115】

本明細書で使用するときに、「保存アミノ酸置換」という用語は、配列に通常存在するアミノ酸を、同様の大きさ、電荷、または極性を有する異なるアミノ酸で置換することを指す。保存置換の例には、イソロイシン、バリン、およびロイシン等の非極性(疎水性)残基の別の非極性残基との置換が挙げられる。同様に、保存置換の例には、アルギニンとリジン、グルタミンとアスパラギン、およびグリシンのセリン等の極性(親水性)残基の別の残基との置換が挙げられる。さらに、リジン、アルギニン、もしくはヒスチジン等の塩基性残基の別の塩基性残基との置換、またはアスパラギン酸もしくはグルタミン酸等のあ

50

る酸性残基の別の酸性残基との置換が、保存置換のさらなる例である。非保存置換の例には、イソロイシン、バリン、ロイシン、アラニン、メチオニン等の非極性（疎水性）アミノ酸残基の、システイン、グルタミン、グルタミン酸、もしくはリジン等の極性（親水性）残基との置換、および／または極性残基の非極性残基との置換が挙げられる。

【0116】

「挿入変異形」とは、ポリペプチドについて言及するとき、1個以上のアミノ酸が天然配列または出発配列内の特定の位置のアミノ酸にすぐ隣接して挿入されたものである。アミノ酸に「すぐ隣接した」とは、アミノ酸の α -カルボキシ官能基または α -アミノ官能基のいずれかに連結されていることを意味する。

【0117】

「欠失変異形」とは、ポリペプチドについて言及するとき、天然アミノ酸配列または出発アミノ酸配列内の1個以上のアミノ酸が除去されたものである。通常、欠失変異形は、1個以上のアミノ酸を分子の特定の領域で欠失させる。

【0118】

「共有結合誘導体」は、ポリペプチドについて言及するとき、有機タンパク質性もしくは非タンパク質性誘導体化剤での天然タンパク質もしくは出発タンパク質の修飾、および／または翻訳後修飾を含む。共有結合修飾は、従来、タンパク質の標的アミノ酸残基を、選択された側鎖または末端残基と反応することができる有機誘導体化剤と反応させることによって、または選択された組換え宿主細胞において機能する翻訳後修飾の機構を利用することによって導入される。結果として生じる共有結合誘導体は、組換え糖タンパク質の免疫親和性精製のための抗タンパク質抗体の生物学的活性、免疫学的アッセイ、または調製に重要な残基の特定を目的としたプログラムにおいて有用である。そのような修飾は、当技術分野の技術の範囲内であり、過度の実験なく行われる。

【0119】

ある特定の翻訳後修飾は、発現腫瘍学関連ポリペプチドにおける組換え宿主細胞の作用の結果である。グルタミニルおよびアスパラギニル残基は、高い頻度で、翻訳後に対応するグルタミルおよびアスパルチル残基に脱アミド化される。あるいは、これらの残基は、弱酸性条件下で脱アミド化される。これらの残基のいずれかの形態も、本発明に従って産生された腫瘍学関連ポリペプチドに存在し得る。

【0120】

他の翻訳後修飾は、プロリンおよびリジンのヒドロキシル化、セリルまたはトレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リジン、アルギニン、およびヒスチジン側鎖の α -アミノ基のメチル化を含む（T. E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W. H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79-86 (1983)）。

【0121】

「特徴」は、ポリペプチドについて言及するとき、分子のはっきりと異なるアミノ酸配列に基づく成分と定義される。本発明のmmRNAによってコードされるポリペプチドの特徴には、表面出現、局所立体配座形状、折り畳み、ループ、半ループ、ドメイン、半ドメイン、部位、末端、またはこれらの任意の組み合わせが含まれる。

【0122】

本明細書で使用され、ポリペプチドについて言及するとき、「表面出現」という用語は、タンパク質のポリペプチド系成分が最も外側の表面に現れることを指す。

【0123】

本明細書で使用され、ポリペプチドについて言及するとき、「局所立体配座形状」という用語は、タンパク質の定義可能な空間内に位置するタンパク質のポリペプチド系構造の出現を意味する。

【0124】

本明細書で使用され、ポリペプチドについて言及するとき、「折り畳み」という用語は、エネルギー最小化時のアミノ酸配列の結果として生じる立体構造を指す。折り畳みは、

10

20

30

40

50

折り畳みプロセスの二次または三次レベルで生じ得る。二次レベルの折り畳みの例には、 β シートおよび α ヘリックスが挙げられる。三次レベルの折り畳みの例には、エネルギーの凝集または分離が原因で形成されるドメインおよび領域を含む。このようにして形成された領域は、疎水性および親水性ポケット等を含む。

【0125】

本明細書で使用する「回転」という用語は、タンパク質構造に関するとき、ペプチドまたはポリペプチドの骨格の方向を変化させる屈曲を意味し、1、2、または3個以上のアミノ酸残基が関与し得る。

【0126】

本明細書で使用され、ポリペプチドについて言及するとき、「ループ」という用語は、ペプチドまたはポリペプチドの骨格の方向を逆転させる役目を果たし得るポリペプチドの構造的特徴を指す。ループがポリペプチドで見つけられ、かつ骨格の方向のみを変化させる場合、これは、4個以上のアミノ酸残基を含み得る。Olivaらは、少なくとも5つのクラスのタンパク質ループを特定している(J. Mol Biol 266(4): 814-830; 1997)。ループは、開ループまたは閉ループであり得る。閉ループまたは「環状」ループは、架橋部分の間に2、3、4、5、6、7、8、9、または10個以上のアミノ酸を含み得る。そのような架橋部分は、ジスルフィド架橋を有するポリペプチドにおいて典型的なシステイン-システイン架橋(Cys-Cys)を含み得るか、またはあるいは架橋部分は、本明細書で用いられるジブロモジリル剤(dibromozyllyl agent)等の非タンパク質系のものであり得る。

【0127】

本明細書で使用され、ポリペプチドについて言及するとき、「半ループ」という用語は、それが由来するループとして特定されたアミノ酸残基の少なくとも半数を有するループの部分に指す。ループが必ずしも偶数のアミノ酸残基を含有するわけではないことが理解される。したがって、ループが奇数のアミノ酸を含有するか、または奇数のアミノ酸を含むと特定された場合において、奇数のループの半ループは、ループの整数部分または次の整数部分(ループのアミノ酸の数 $\div 2 + \text{余り}$ 、5個のアミノ酸)を含む。例えば、7アミノ酸ループと特定されたループは、3個のアミノ酸または4個のアミノ酸($7 \div 2 = 3 \text{ 余り } 1$ 、5で3または4になる)の半ループをもたらし得る。

【0128】

本明細書で使用され、ポリペプチドについて言及するとき、「ドメイン」という用語は、1つ以上の特定可能な構造または機能特徴または特性(例えば、結合能力、タンパク質間の相互作用の部位としての役割を果たす)を有するポリペプチドのモチーフを指す。

【0129】

本明細書で使用され、ポリペプチドについて言及するとき、「半ドメイン」という用語は、それが由来するドメインとして特定されたアミノ酸残基の少なくとも半数を有するドメインの部分の意味する。ドメインが必ずしも偶数のアミノ酸残基を含有するわけではないことが理解される。したがって、ドメインが奇数のアミノ酸を含有するか、または奇数のアミノ酸を含むと特定された場合において、奇数のドメインの半ドメインは、ドメインの整数部分または次の整数部分(ドメインのアミノ酸の数 $\div 2 + \text{余り}$ 、5個のアミノ酸)を含む。例えば、7アミノ酸ドメインと特定されたドメインは、3個のアミノ酸または4個のアミノ酸($7 \div 2 = 3 \text{ 余り } 1$ 、5で3または4になる)の半ドメインをもたらし得る。サブドメインがドメインまたは半ドメイン内で特定され得、これらのサブドメインが、それらが由来するドメインまたは半ドメインで特定された構造特性または機能特性のすべてに満たない構造特性または機能特性を有することも理解される。本明細書のドメイン型のうちのいずれを含むアミノ酸もポリペプチドの骨格に沿って隣接している必要はない(すなわち、非隣接アミノ酸が構造的に折り畳まれて、ドメイン、半ドメイン、またはサブドメインをもたらし得る)ことも理解される。

【0130】

本明細書で使用され、ポリペプチドについて言及するとき、「部位」という用語は、ア

ミノ酸系の実施形態に関すると、**「アミノ酸残基」**および**「アミノ酸側鎖」**と同義に使用される。部位は、本発明のポリペプチド系分子内で修飾、操作、改変、誘導体化、または変更され得るペプチドまたはポリペプチド内の位置を表す。

【0131】

本明細書で使用され、ポリペプチドについて言及するとき、**「末端 (termini)」**または**「末端 (terminus)」**という用語は、ペプチドまたはポリペプチドの端を指す。そのような端は、ペプチドまたはポリペプチドの第1または最終部位に限定されるだけでなく、末端領域にさらなるアミノ酸も含み得る。本発明のポリペプチド系分子は、N末端（アミノ酸によって遊離アミノ基（NH₂）で終端する）もC末端（アミノ酸によって遊離カルボキシル基（COOH）で終端する）もいずれも有することを特徴とし得る。本発明のタンパク質は、ある場合には、ジスルフィド結合または非共有結合（多量体、オリゴマー）によって結び付けられた複数のポリペプチド鎖から成り得る。これらの種類のタンパク質は、複数のN末端およびC末端を有する。あるいは、ポリペプチドの末端は、それらが場合によって有機複合体等の非ポリペプチド系部分で始まるか、または終了するように修飾され得る。

10

【0132】

これらの特徴のうちのいずれかが本発明のシグナルセンサー一次構築物またはmmRNAによってコードされるポリペプチドの所望の成分であると特定または定義されると、これらの特徴のいくつかの操作および／または修飾のうちのいずれも、移動、交換、反転、欠失、ランダム化、または複製によって行われ得る。さらに、特徴の操作が本発明の分子に対する修飾と同一の結果をもたらすことが理解される。例えば、ドメインの欠失を伴う操作は、全長分子未満をコードする核酸の修飾のような分子の長さの改変をもたらす。

20

【0133】

修飾および操作は、部位特異的変異誘発等であるが、これに限定されない当技術分野で既知の方法によって達成され得る。その後、結果として生じる修飾された分子は、本明細書に記載のアッセイ等のインビトロまたはインビボアッセイ、または当技術分野で既知の任意の他の好適なスクリーニングアッセイを用いて活性について試験され得る。

【0134】

本発明に従って、腫瘍学関連ポリペプチドは、一連の実験によって発見されるコンセンサス配列を含み得る。本明細書で使用する時、**「コンセンサス」**配列とは、1つ以上の部位で可変性を可能にする配列の集合集団を表す単一配列である。

30

【0135】

当業者によって認識されるように、タンパク質断片、機能的タンパク質ドメイン、および相同タンパク質も、本発明の目的とする腫瘍学関連ポリペプチドの範囲内であると見なされる。例えば、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、または100を超えるアミノ酸長の参照腫瘍学関連タンパク質の任意のタンパク質断片（少なくとも1個のアミノ酸残基が参照腫瘍学関連ポリペプチド配列よりも短い、他の点では同一である腫瘍学関連ポリペプチド配列を意味する）が本明細書に提供される。別の例において、本明細書に記載の配列のうちのいずれかと約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%、または約100%同一の一続きの約20、約30、約40、約50、または約100個のアミノ酸を含む任意の腫瘍学関連タンパク質が本発明に従って利用され得る。ある特定の実施形態において、本発明に従って利用されるポリペプチドは、本明細書に提供または参照される配列のうちのいずれかに示される2、3、4、5、6、7、8、9、10以上の変異を含む。

40

【0136】

コードされた腫瘍学関連ポリペプチド

本発明のシグナルセンサー一次構築物またはmmRNAは、腫瘍学関連ペプチドおよびタンパク質といった、目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードするように設計され得る。

【0137】

50

一実施形態において、本発明のシグナルセンサー一次構築物またはmmRNAは、参照腫瘍学関連ポリペプチド配列とある特定の同一性を有する変異形ポリペプチドをコードし得る。本明細書で使用される「参照腫瘍学関連ポリペプチド配列」は、出発腫瘍学関連ポリペプチド配列を指す。参照配列は、野生型配列であり得るか、または、別の配列の設計で参照されるいずれかの配列であり得る。「参照ポリペプチド配列」は例えば、表6に挙げられるタンパク質配列のいずれか1つであり得る。

【0138】

当技術分野で既知の「同一性」という用語は、配列を比較することによって決定される2個以上のペプチドの配列間の関係を指す。当技術分野において、同一性は、2個以上のアミノ酸残基のストリング間のマッチ数によって決定されるペプチド間の配列関連性の程度も意味する。同一性は、特定の数学モデルまたはコンピュータプログラム（すなわち、「アルゴリズム」）によって処理されるギャップアライメント（存在する場合）を有する2つ以上の配列のうちのより小さい配列間の同一のマッチの割合（％）を測定する。関連ペプチドの同一性は、既知の方法によって容易に計算され得る。そのような方法には、Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988、Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993、Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994、Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987、Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M. Stockton Press, New York, 1991、およびCarillo et al., SIAM J. Applied Math. 48, 1073 (1988)に記載の方法が含まれるが、これらに限定されない。

【0139】

いくつかの実施形態において、ポリペプチド変異形は、参照腫瘍学関連ポリペプチドと同一または同様の活性を有し得る。あるいは、変異形は、参照腫瘍学関連ポリペプチドと比較して変化（例えば、増加または減少）した活性を有し得る。概して、本発明の特定のシグナルセンサーポリヌクレオチドまたは腫瘍学関連ポリペプチドの変異形は、本明細書に記載され、かつ当業者に既知の配列アライメントプログラムおよびパラメータによって決定されるように、特定の参照シグナルセンサーポリヌクレオチドまたは腫瘍学関連ポリペプチドの変異形と少なくとも約40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％であるが、100％未満の配列同一性を有する。そのようなアライメントのツールは、BLASTプログラム一式を含む（Stephen F. Altschul, Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402)。他のツールは、本明細書、具体的には、「同一性」の定義に記載される。

【0140】

BLASTアルゴリズムの初期設定パラメータは、例えば、予測閾値10、ワードサイズ28、マッチ／ミスマッチスコア1、-2、線形ギャップコストを含む。任意のフィルター、ならびに種特異的繰り返し配列、例えば、ヒト特異的繰り返し配列の選択が適用され得る。

10

20

30

40

50

【0141】

一実施形態において、シグナルセンサーシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および／またはmmRNAを用いて対象の疾患、障害および／または状態を治療し得る。

【0142】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および／またはmmRNAを用いて対象の腫瘍成長を軽減、除去または防止し得る。

【0143】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物および／またはmmRNAを用いて、対象のがんの少なくとも1つの症状を軽減および／または改善し得る。がんの症状としては、脱力感、疼痛および痛み、熱、疲労、体重減少、血液凝固、血液のカルシウム量の上昇、白血球数の低下、息切れ、めまい、頭痛、色素沈着過剰、黄疸、紅斑症、そう痒症、多毛症、排便習慣の変化、膀胱機能の変化、永続的な潰瘍、口内の白い斑点、舌上の白点、異常な出血または排泄、身体部分の肥大またはこぶ、消化不良、呑み込みにくさ、いぼまたはほくろの変化、新しい皮膚の変化およびしつこい咳またはしわがれ声が挙げられ得るが、これらに限定されない。さらに、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物および／またはmmRNAは、限定されないが、ケモブレイン（chemobrain）、末梢性ニューロパシー、疲労、鬱、吐き気、嘔吐、痛み、貧血、リンパ浮腫、感染症、性的副作用、妊娠能の低下または不妊症、オストミー、不眠症および脱毛といった、がん関連の副作用を軽減し得る。

【0144】

腫瘍学関連タンパク質または腫瘍学関連ペプチド

本明細書で開示されるシグナルセンサー一次構築物またはmmRNAは、1個以上の有効な、または「試験用の」腫瘍学関連タンパク質または腫瘍学関連ペプチドをコードし得る。

【0145】

本発明に従うと、現在販売されている、または開発中の1つ以上の腫瘍学関連タンパク質または腫瘍学関連ペプチドが、本発明の腫瘍学関連シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAによってコードされ得る。理論に束縛されることは望まないが、本発明のシグナルセンサー一次構築物またはmmRNAに組み込むことで、少なくとも部分的に、構築物設計の特異性、純度および選択性のために、治療上の効果の改善をもたらす。

【0146】

シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物および／またはmmRNAは、生物学的および／または生理的なプロセスおよび／または化合物を改変し得、例えば、がん細胞、前がん細胞および／もしくは他の細胞における、細胞周期、DNA損傷応答（例えば、DNA損傷修復）、アポトーシス、血管新生、細胞運動性、上皮細胞の上皮間葉転換、ホスファチジルイノシトール3（PI3）キナーゼ/Akt細胞性シグナル伝達経路、テロメラーゼ活性および／もしくは発現、腫瘍転移、腫瘍形成、カテプシン、細胞老化、受容体チロシンキナーゼシグナル伝達、代謝および薬物代謝、Gタンパク質シグナル伝達、成長因子および受容体、熱ショックタンパク質、ヒストンデアセチラーゼ、ホルモン受容体、低酸素、ポリADPリボースポリメラーゼ、プロテインキナーゼ、RASシグナル伝達、トピソメラーゼ、転写因子ならびに腫瘍抑制活性が挙げられるが、これらに限定されない。

【0147】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物および／またはmmRNAを用いて、欠失または突然変異させた遺伝子から生産されるタンパク質を置換する目的で、細胞または組織でポリペプチドを発現させ得る。

【0148】

さらに、本発明のポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、天然およ

10

20

30

40

50

び／または合成由来の発癌物質によって生じた癌を治療し得る。別の実施形態では、ポリヌクレオチド、一次構築物および／またはmmRNAの使用を用いて、他の生物体によって引き起こされるがんおよび／またはウイルス感染によって引き起こされるがんを治療し得る。

【0149】

隣接領域のセンサー：非翻訳領域（UTR）

遺伝子の非翻訳領域（UTR）は、転写されるが、翻訳されない。5' UTRが転写開始部位で始まり開始コドンに続くが、開始コドンを含まない一方で、3' UTRは、終止コドンの直後に始まり、転写終結シグナルまで続く。核酸分子および翻訳の安定性においてUTRが果たす制御的役割についての報告が相次いでいる。UTRの制御特徴は、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および／またはmmRNAに組み込まれて、分子の安定性を高め得る。特定の特徴も組み込まれて、万が一それらが望ましくない器官部位に誤指向される場合には転写物の制御された下方制御を確保することができる。非翻訳領域は、mRNAを生産し得、および／または、細胞、組織および／または生物体に送達されて、目的とするポリペプチドを生産し得るベクター系に組み込まれ得る。

【0150】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物および／またはmmRNAは、少なくとも1つの末端修飾を含み得る。末端修飾の非制限的な例が、2012年11月26日出願の米国仮特許出願第61/729,933号、表題「Terminally Optimized Modified RNAs」、2012年12月14日出願の米国仮特許出願第61/737,224号、表題「Terminally Optimized RNAs」、2013年1月31日出願の米国仮特許出願第61/758,921号、表題「Differential Targeting Using RNA Constructs」、2013年3月14日出願の米国仮特許出願第61/781,139号、表題「Differential Targeting Using RNA Constructs」、2013年5月31日出願の米国仮特許出願第61/829,359号、表題「Differential Targeting Using RNA Constructs」、2013年6月27日出願の米国仮特許出願第61/839,903号、表題「Differential Targeting Using RNA Constructs」、2013年7月3日出願の米国仮特許出願第61/842,709号、表題「Differential Targeting Using RNA Constructs」、2013年7月23日出願の米国仮特許出願第61/857,436号、表題「Differential Targeting Using RNA Constructs」に記載されており、当該仮特許出願の各々の内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。これらの末端修飾には、5' キャップ、末端領域におけるマイクロRNA結合部位、鎖終止ヌクレオシド、末端領域における翻訳エンハンサー要素ならびにポリA-Gカルテットおよびステムループ配列を含む尾部配列が含まれるが、これらに限定されない。

【0151】

5' UTRおよび翻訳開始

天然5' UTRは、翻訳開始に関与する特徴を有する。それらは、リボソームが多くの遺伝子の翻訳を開始するプロセスに関与することで一般に知られているコザック配列のような特徴を有する。コザック配列は、コンセンサスCCR (A/G) CCAUGGを有し、式中、Rは、開始コドン(AUG)の3塩基上流のプリン(アデニンまたはグアニン)であり、この後に別の「G」が続く。5' UTRは、伸長因子結合に関与する二次構造を形成することも知られている。例えば、二次5' -UTR構造の1つにeIF4A2伸長因子結合のための構造化したIRESがあり、これは、3' UTRにおけるマイクロRNA媒介性遺伝子抑制に必要である。

【0152】

伸長因子結合に関わる 5' UTR の二次構造は、5' UTR または 3' UTR で他の RNA 結合分子と相互作用し、遺伝子発現を調節し得る。例えば、5' UTR で二次構造化した要素に結合する伸長因子 EIF4A2 は、マイクロ RNA 媒介性抑制に必要である (Meijer HA et al., Science, 2013, 340, 82-85、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。5' UTR における異なる二次構築物が隣接領域に組み込まれ、特定の組織または細胞の mRNA を安定化するかまたは選択的に不安定化するかをいずれかを行い得る。

【0153】

特定の標的器官の多量に発現した遺伝子において典型的に見られる特徴を操作することによって、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、または mmRNA の安定性および腫瘍学関連タンパク質産生を高めることができる。例えば、アルブミン、血清アミロイド A、アポリポタンパク質 A/B/E、トランスフェリン、 α フェトタンパク質、エリスロポエチン、または第 VIL 因子等の肝臓で発現した mRNA の 5' UTR 導入を用いて、肝細胞株または肝臓での mmRNA 等の核酸分子の発現を高めることができる。同様に、他の組織特異的 mRNA からの 5' UTR を用いてその組織での発現を高めることは、筋肉 (MyoD、ミオシン、ミオグロビン、ミオゲニン、ヘルクリン (Herculin))、内皮細胞 (Tie-1、CD36)、骨髄細胞 (C/EBP、AML1、G-CSF、GM-CSF、CD11b、MSR、Fr-1、i-NOS)、白血球 (CD45、CD18)、脂肪組織 (CD36、GLUT4、ACRP30、アディポネクチン)、および肺上皮細胞 (SP-A/B/C/D) において可能である。

【0154】

他の非 UTR 配列が、5' UTR (または 3' UTR) に組み込まれ得る。例えば、イントロンまたはイントロン配列の一部は、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、または mmRNA の隣接領域に組み込まれ得る。イントロン配列の組み込みは、タンパク質産生、ならびに mRNA 量を増加させ得る。

【0155】

翻訳エンハンサー要素 (TEE)

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および/または mmRNA の 5' UTR には、少なくとも 1 つの翻訳上エンハンサーポリヌクレオチド、翻訳エンハンサー要素、翻訳上エンハンサー要素 (複数) (集合的に「TEE」(複数可) と呼ぶ) が含まれ得る。非制限的な例として、TEE は、転写プロモーターと開始コドンとの間に位置し得る。5' UTR に少なくとも 1 つの TEE を有するシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および/または mmRNA は、5' UTR にキャップを含み得る。さらに、キャップ依存性またはキャップ非依存性翻訳を行うシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および/または mmRNA の 5' UTR に、少なくとも 1 つの TEE が位置し得る。

【0156】

「翻訳上エンハンサー要素」または「翻訳エンハンサー要素」(本明細書では集合的に「TEE」と呼ぶ) という語句は、mRNA から生産されるポリペプチドまたはタンパク質の量を増大する配列を指す。

【0157】

一実施形態において、TEE は UTR で保存される要素であり、限定はしないが、キャップ依存性またはキャップ非依存性翻訳といった、核酸の翻訳活性を助長することができる。これらの配列の保存は、ヒトを含む 14 種にわたって Panek ら (Nucleic Acids Research, 2013, 1-10; 参照によりその全体が本明細書に組み込まれる) によって以前に示されている。

【0158】

一実施形態において、TEE は実施例 45 の表 35 で挙げる TEE のいずれかであり得、その部分および/または断片を含む。TEE 配列は、表 35 に開示される TEE 配列の少なくとも 5%、少なくとも 10%、少なくとも 15%、少なくとも 20%、少なくとも

25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%もしくは99%超を含み得、および／または、TEE配列は、表35に開示されるTEE配列の5～30個のヌクレオチド断片、5～25個のヌクレオチド断片、5～20個のヌクレオチド断片、5～15個のヌクレオチド断片、5～10個のヌクレオチド断片を含み得る。

【0159】

1つの非制限的な例として、公知のTEEは、Gtxホメオドメインタンパク質の5'リーダーにあり得る (Chappellet et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:9590-9594, 2004、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。

10

【0160】

別の非制限的な例として、TEEは、米国特許出願第20090226470号では配列番号1～35、米国特許出願第WO20130177581号では配列番号1～35、国際特許出願第WO2009075886号では配列番号1～35、国際特許出願第WO2012009644号では配列番号1～5および7～645、国際特許出願第WO1999024595号では配列番号1、米国特許出願第US6310197号では配列番号1、および、米国特許出願第US6849405号では配列番号1として開示され、当該出願は各々は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

20

【0161】

さらに別の非制限的な例として、限定はしないが、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第US7468275号、米国特許公開第US20070048776号および同第20110124100号ならびに国際特許公開第WO2007025008号および同第2001055369号に記載されるような配列内リボソーム進入部位 (IRES)、HCV-IRESまたはIRES要素であり得る。IRES要素としては、限定はしないが、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる、Chappelletら (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:9590-9594, 2004) およびZhouら (PNAS 102:6273-6278, 2005) によって、ならびに、米国特許公開第US20070048776号および同第US20110124100号および国際特許公開第WO2007025008号に記載されるGtx配列 (例えば、Gtx9-nt、Gtx8-nt、Gtx7-nt) が挙げられ得る。

30

【0162】

「翻訳上エンハンサーポリヌクレオチド」または「翻訳エンハンサーポリヌクレオチド配列」は、本明細書で例として挙げられる、および／または、当該技術分野 (例えば、米国特許第US6310197号、米国特許第US6849405号、米国特許第US7456273号、米国特許第US7183395号、米国特許第US20090226470号、米国特許第US20070048776号、米国特許第US20110124100号、米国特許第US20090093049号、米国特許第US20130177581号、国際公開第WO2009075886号、国際公開第WO2007025008号、国際公開第WO2012009644号、国際公開第WO2001055371号、国際公開第WO1999024595号、ならびに欧州特許第EP2610341A1号および欧州特許第2610340A1号を参照；各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる) で開示される特定のTEEまたはそれらの変異形、相似体もしくは機能的誘導体を1つ以上含むポリヌクレオチドである。特定のTEEの1または複数の複写物がシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAに存在し得る。翻訳上エンハンサーポリヌクレオチドのTEEは、1つ以上の配列セグメントで組織化され得る。配列セグメントは、本明細書で例として挙げられる特定のTEEを1つ以上保有し得、各TEEは1つ以上の複写物で存在する。複数の配列セグメントが翻訳上エンハンサーポリヌクレオチドに存在する場合、同種または異種であり得る。したがって

40

50

、翻訳上エンハンサーポリヌクレオチドの複数の配列セグメントは、同一もしくは異なる種類の本明細書で例示される特定の T E E、特定の T E E それぞれの同一もしくは異なる数の複写物、および／または、各配列セグメント内に T E E の同一もしくは異なる組織を保有し得る。

【0163】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／または m m R N A は、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第 W O 1 9 9 9 0 2 4 5 9 5 号、国際公開第 W O 2 0 1 2 0 0 9 6 4 4 号、国際公開第 W O 2 0 0 9 0 7 5 8 8 6 号、国際公開第 W O 2 0 0 7 0 2 5 0 0 8 号、国際公開第 W O 1 9 9 9 0 2 4 5 9 5 号、欧州特許公開第 E P 2 6 1 0 3 4 1 A 1 号および E P 2 6 1 0 3 4 0 A 1 号、米国特許第 U S 6 3 1 0 1 9 7 号、米国特許第 U S 6 8 4 9 4 0 5 号、米国特許第 U S 7 4 5 6 2 7 3 号、米国特許第 U S 7 1 8 3 3 9 5 号、米国特許第 U S 2 0 0 9 0 2 2 6 4 7 0 号、米国特許第 U S 2 0 1 1 0 1 2 4 1 0 0 号、米国特許第 U S 2 0 0 7 0 0 4 8 7 7 6 号、米国特許第 U S 2 0 0 9 0 0 9 3 0 4 9 号および米国特許第 U S 2 0 1 3 0 1 7 7 5 8 1 号で説明される T E E を少なくとも 1 つ含み得る。T E E は、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／または m m R N A の 5 ' U T R に位置し得る。

【0164】

別の実施形態では、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／または m m R N A は、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第 U S 2 0 0 9 0 2 2 6 4 7 0 号、米国特許第 U S 2 0 0 7 0 0 4 8 7 7 6 号、米国特許第 U S 2 0 1 3 0 1 7 7 5 8 1 号および米国特許第 U S 2 0 1 1 0 1 2 4 1 0 0 号、国際公開第 W O 1 9 9 9 0 2 4 5 9 5 号、国際公開第 W O 2 0 1 2 0 0 9 6 4 4 号、国際公開第 W O 2 0 0 9 0 7 5 8 8 6 号および国際公開第 W O 2 0 0 7 0 2 5 0 0 8 号、欧州特許第 E P 2 6 1 0 3 4 1 A 1 号および欧州特許第 E P 2 6 1 0 3 4 0 A 1 号、米国特許第 U S 6 3 1 0 1 9 7 号、米国特許第 U S 6 8 4 9 4 0 5 号、米国特許第 U S 7 4 5 6 2 7 3 号、米国特許第 U S 7 1 8 3 3 9 5 号に記載される T E E と、少なくとも 5 0 %、少なくとも 5 5 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 6 5 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 % または少なくとも 9 9 % の同一性を有する T E E を少なくとも 1 つ含み得る。

【0165】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／または m m R N A の 5 ' U T R は、少なくとも 1 個、少なくとも 2 個、少なくとも 3 個、少なくとも 4 個、少なくとも 5 個、少なくとも 6 個、少なくとも 7 個、少なくとも 8 個、少なくとも 9 個、少なくとも 1 0 個、少なくとも 1 1 個、少なくとも 1 2 個、少なくとも 1 3 個、少なくとも 1 4 個、少なくとも 1 5 個、少なくとも 1 6 個、少なくとも 1 7 個、少なくとも 1 8 少なくとも 1 9 個、少なくとも 2 0 個、少なくとも 2 1 個、少なくとも 2 2 個、少なくとも 2 3 個、少なくとも 2 4 個、少なくとも 2 5 個、少なくとも 3 0 個、少なくとも 3 5 個、少なくとも 4 0 個、少なくとも 4 5 個、少なくとも 5 0 個、少なくとも 5 5 個または 6 0 個超の T E E 配列を含み得る。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／または m m R N A の 5 ' U T R における T E E 配列は、同一または異なる T E E 配列であり得る。T E E 配列は、A B A B A B もしくは A A B B A A B B A A B B もしくは A B C A B C A B C または 1 回、2 回または 4 回以上繰り返したその変異形といったパターンであり得る。これらのパターンでは、各文字 A、B または C は、ヌクレオチドレベルで異なる T E E 配列を表す。

【0166】

一実施形態において、5 ' U T R は、2 つの T E E 配列を分離するスペーサーを含み得る。非制限的な例として、スペーサーは 1 5 個のヌクレオチドのスペーサーおよび／または当該技術分野で知られる他のスペーサーであり得る。非制限的な例として、5 ' U T R は、5 ' U T R で少なくとも 1 回、少なくとも 2 回、少なくとも 3 回、少なくとも 4 回、

少なくとも5回、少なくとも6回、少なくとも7回、少なくとも8回および少なくとも9回または9回超で繰り返されるT E E配列—スパーサーモジュールを含み得る。

【0167】

別の実施形態では、2つのT E E配列を分離するスパーサーは、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAの翻訳を制御し得る当該技術分野では公知の他の配列を含み得、例えば、本明細書に記載されるmiR配列（例えばmiR結合部位およびmiR種）が挙げられるがこれらに限定されない。非制限的な例として、2つのT E Eを分離するために使用される各スパーサーは、異なるmiR配列またはmiR配列の異なる成分（例えば、miR種配列）を含み得る。

【0168】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAの5'UTRにおけるT E Eは、米国特許第US20090226470号、米国特許第US20070048776号、米国特許第US20130177581号および米国特許第US20110124100号、国際公開第WO1999024595号、国際公開第WO2012009644号、国際公開第WO2009075886号および国際公開第WO2007025008号、欧州特許第EP2610341A1号および欧州特許第EP2610340A1号、米国特許第US6310197号、米国特許第US6849405号、米国特許第US7456273号、米国特許第US7183395で開示されるT E E配列の少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または99%超を含み得る。別の実施形態では、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAの5'UTRにおけるT E Eは、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第20090226470号、米国特許第20070048776号、米国特許第20130177581号および米国特許第20110124100号、国際公開第WO1999024595号、国際公開第WO2012009644号、国際公開第WO2009075886号および国際公開第WO2007025008号、欧州特許第2610341A1号およびEP2610340A1号、米国特許第6310197号、米国特許第6849405号、米国特許第7456273号、米国特許第7183395号で開示されるT E E配列の5～30個のヌクレオチド断片、5～25個のヌクレオチド断片、5～20個のヌクレオチド断片、5～15個のヌクレオチド断片、5～10個のヌクレオチド断片を含み得る。

【0169】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAの5'UTRにおけるT E Eは、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる、Chappellら（Proc. Natl. Acad. Sci. USA101:9590-9594、2004）およびZhouら（PNAS102:6273-6278、2005）に開示され、Wellensiekら（Genome-wide profiling of human cap-independent translation-enhancing elements, Nature Methods、2013; DOI:10.1038/NMETH.2522）によって開示された補足表1および補足表2で開示されるT E E配列の少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または99%超を含み得る。別の実施形態では、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAの5'UTRにおけるT

10

20

30

40

50

EEは、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる、Chappelら(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101: 9590-9594, 2004)およびZhouら(PNAS 102: 6273-6278, 2005)に開示され、Wellensiekら(Genome-wide profiling of human cap-independent translation-enhancing elements, Nature Methods, 2013; DOI: 10.1038/NMETH.2522)によって開示された補足表1および補足表2で開示されるTEE配列の5~30個のヌクレオチド断片、5~25個のヌクレオチド断片、5~20個のヌクレオチド断片、5~15個のヌクレオチド断片、5~10個のヌクレオチド断片を含み得る。

10

【0170】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAの5'UTRで用いられるTEEは、IRES配列であり、例えば、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第7468275号および国際公開第WO2001055369号に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0171】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAの5'UTRで用いられるTEEは、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第20070048776号および米国特許第20110124100号ならびに国際公開第WO2007025008号および国際公開第WO2012009644号に記載される方法で識別され得る。

20

【0172】

別の実施形態では、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAの5'UTRで用いられるTEEは、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第7456273号および米国特許第7183395号、米国特許第20090093049号ならびに国際公開第WO2001055371号に記載される転写調節要素であり得る。転写調節要素は、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第7456273号および米国特許第7183395号、米国特許第20090093049号ならびに国際公開第WO2001055371号に記載される方法といった、当該技術分野で公知の方法で識別され得るが、これらに限定されない。

30

【0173】

さらに別の実施形態では、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAの5'UTRで用いられるTEEは、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第7456273号および米国特許第7183395号、米国特許第20090093049号ならびに国際公開第WO2001055371号に記載されるオリゴヌクレオチドまたはその部分である。

【0174】

本明細書に記載されるTEEを少なくとも1つ含む5'UTRは、限定はしないが、ベクター系または核酸ベクターといったモノシストロニック配列に組み込まれ得る。非制限的な例として、ベクター系または核酸ベクターは、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第7456273号および米国特許第7183395号、米国特許第20070048776号、米国特許第20090093049号および米国特許第20110124100号ならびに国際公開第WO2007025008号および国際公開第WO2001055371号に記載されるものを含み得る。

40

【0175】

一実施形態において、本明細書に記載されるTEEは、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAの5'UTRおよび／または3'UTRに位置し得る。3'UTRに位置するTEEは、5'UTRに位置する、および／

50

または、5' UTRへの組み込みに関して説明されたTEEと同一および／または異なり得る。

【0176】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAの3' UTRは、少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個、少なくとも17個、少なくとも18、少なくとも19個、少なくとも20個、少なくとも21個、少なくとも22個、少なくとも23個、少なくとも24個、少なくとも25個、少なくとも30個、少なくとも35個、少なくとも40個、少なくとも45個、少なくとも50個、少なくとも55個または60個超のTEE配列を含み得る。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAの3' UTRにおけるTEE配列は、同一または異なるTEE配列であり得る。TEE配列は、A B A B A BまたはA A B B A A B B A A B BまたはA B C A B C A B Cまたは1回、2回または4回以上繰り返されるその変異形といったパターンであり得る。これらのパターンでは、各文字A、BまたはCはヌクレオチドレベルで異なるTEE配列を表す。

10

【0177】

一実施形態において、3' UTRは、2つのTEE配列を分離するスペーサーを含み得る。非制限的な例として、スペーサーは15個のヌクレオチドのスペーサーおよび／または当該技術分野で知られる他のスペーサーであり得る。非制限的な例として、3' UTRは、3' UTRで少なくとも1回、少なくとも2回、少なくとも3回、少なくとも4回、少なくとも5回、少なくとも6回、少なくとも7回、少なくとも8回および少なくとも9回または9回超で繰り返されるTEE配列ースペーサーモジュールを含み得る。

20

【0178】

別の実施形態では、2つのTEE配列を分離するスペーサーは、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、修飾核酸および／またはmmRNAの翻訳を制御し得る当該技術分野では公知の他の配列を含み得、例えば、本明細書に記載されるmiR配列（例えばmiR結合部位およびmiR種）が挙げられるがこれらに限定されない。非制限的な例として、2つのTEE配列を分離するために使用される各スペーサーは、異なるmiR配列またはmiR配列の異なる成分（例えば、miR種配列）を含み得る。

30

【0179】

一実施形態において、miR配列および／またはTEE配列の組み込みは、ステムループ領域の形状を変え、これは、翻訳を増大および／または低下し得る（例えば、Kedde et al., A Pumilio-induced RNA structure switch in p27-3' UTR controls miR-221 and miR-22 accessibility. Nature Cell Biology. 2010を参照、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0180】

一実施形態において、5' UTRは、少なくとも1つのマイクロRNA配列を含み得る。マイクロRNA配列は、限定はしないが、19または22個のヌクレオチド配列および／または種を有さないマイクロRNA配列であり得る。

40

【0181】

一実施形態において、5' UTRにおけるマイクロRNA配列を用いて、本明細書に記載される核酸および／またはmRNAを安定化させ得る。

【0182】

別の実施形態では、5' UTRにおけるマイクロRNA配列を用いて、限定はしないが、開始コドンといった、翻訳開始の部位の到達性を低下し得る。Matsudaら（PLoS One. 2010 11（5）：e15057；参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）は、第1の開始コドン（AUG）への到達性を低下させるために、開始コ

50

ドンの周囲（AUGコドンのAが+1である場合-4～+37）でアンチセンスロック核酸（LNA）オリゴヌクレオチドおよびエキソーン-ジャンクション複合体（EJC）を用いた。Matsudaは、開始コドン周辺の配列をLNAまたはEJCで改変すると、核酸またはmRNAの効率、長さおよび構造上の安定性が影響を受けることを示した。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドは、翻訳開始の部位の到達性を低下させるために、翻訳開始の部位付近に、Matsudaらが説明したLNAまたはEJCの代わりにマイクロRNA配列を含み得る。翻訳開始の部位は、マイクロRNA配列の前、後ろまたはその中であり得る。非制限的な例として、翻訳開始の部位は、種配列または結合部位といったマイクロRNA配列内に位置し得る。別の非制限的な例として、翻訳開始の部位は、種配列またはmir-122結合部位といったmir-122配列内に位置し得る。

10

【0183】

一実施形態において、本発明の核酸またはmRNAは、核酸またはmRNAの領域に、RNA結合タンパク質と相互作用し得るマイクロRNA配列を少なくとも1つ含む。

【0184】

RNA結合タンパク質（RBP）のためのRNAモチーフ

RNA結合タンパク質（RBP）は、同時転写および転写後遺伝子発現の数多くの側面を制御し得、例えば、RNAスプライシング、局在化、翻訳、ターンオーバー、ポリアダニル化、キャッピング、修飾、搬出および局在化が挙げられるが、これらに限定されない。限定はしないが、RNA認識モチーフ（RR）およびhnRNP K-相同（KH）ドメインといったRNA結合ドメイン（RBD）は通常、RBPとそのRNA標的との間の配列の関連性を制御する（Ray et al., Nature 2013, 499:172-177; 参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。一実施形態において、標準のRBDは短いRNA配列と結合し得る。別の実施形態では、標準RBDは構造RNAを認識できる。

20

【0185】

一実施形態において、核酸および／またはmRNAは、限定はしないがRNA結合ドメイン（RBD）といったRNA結合モチーフを少なくとも1つ含む得る。

【0186】

一実施形態において、RBDは、Rayら（Nature 2013, 499:172-177; 参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）が記載するRBD、その断片または変異形のいずれかであり得る。

30

【0187】

一実施形態において、本発明の核酸またはmRNAは、少なくとも1つのRNA結合ドメイン（RBD）のための配列を含み得る。本発明の核酸またはmRNAが2つ以上のRBDを含む場合、RBDは同一の種由来である必要はなく、または、同一の構造上のクラス由来である必要すらない。

【0188】

一実施形態において、少なくとも1つの隣接領域（例えば、5' UTRおよび／または3' UTR）は少なくとも1つのRBDを含み得る。別の実施形態では、第1の隣接領域および第2の隣接領域は双方とも少なくとも1つのRBDを含み得る。RBDは同一であり得、または、各RBDは、もう一方のRBDと少なくとも60%の配列同一性を有し得る。非制限的な例として、少なくとも1つのRBDが、本発明の核酸またはmRNAの3' UTRの前、後ろおよび／またはその中に位置し得る。別の非制限的な例として、少なくとも1つのRBDが、3' UTRの最初の300個のヌクレオシドの前またはその中に位置し得る。

40

【0189】

別の実施形態では、本発明の核酸および／またはmRNAは、結合ヌクレオシドの第1の領域に少なくとも1つのRBDを含み得る。RBDは、コード領域（例えばORF）の前、後ろまたはその中に位置し得る。

【0190】

50

さらに別の実施形態では、結合ヌクレオシドの第1の領域および／または少なくとも1つの隣接領域は、少なくとも1つのRBDを含み得る。非制限的な例として、結合ヌクレオシドの第1の領域は、スプライシング因子に関わるRBDを含み得、少なくとも1つの隣接領域は、安定性および／または翻訳因子のためのRBDを含み得る。

【0191】

一実施形態において、本発明の核酸および／またはmRNAは、核酸および／またはmRNAのコードおよび／または非コード領域に位置するRBDを少なくとも1つ含み得る。

【0192】

一実施形態において、少なくとも1つのRBDが少なくとも1つの隣接領域に組み込まれ、本発明の核酸および／またはmRNAの安定性を増大し得る。

【0193】

一実施形態において、RNA結合タンパク質モチーフのマイクロRNA配列を用いて、限定はしないが、開始コドンといった翻訳開始の部位の到達性を低下させ得る。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドは、翻訳開始の部位の到達性を低下させるために、翻訳開始の部位付近に、Matsudaらが説明したLNAまたはEJCの代わりにマイクロRNA配列を含み得る。翻訳開始の部位は、マイクロRNA配列の前、後ろまたはその中であり得る。非制限的な例として、翻訳開始の部位は、種配列または結合部位といったマイクロRNA配列内に位置し得る。別の非制限的な例として、翻訳開始の部位は、種配列またはmir-122結合部位といったmir-122配列内に位置し得る。

【0194】

別の実施形態では、アンチセンスでロックした核酸(LNA)オリゴヌクレオチドおよびエキソンジャンクション複合体(EJC)をRNA結合タンパク質モチーフで使用し得る。第1の開始コドン(AUG)への到達性を低下するために、LNAおよびEJCを開始コドンの周辺で(AUGコドンのAを+1とする場合、-4～+37)使用し得る。

【0195】

3'UTRおよびAU豊富な要素

3'UTRは、それらに包埋される一続きのアデノシン(Adenosine)およびウリジン(Uridine)を有することで知られている。これらのAU豊富な特徴は、特に高代謝回転率を有する遺伝子においてよく見られる。これらの配列特徴および機能特性に基づいて、AU豊富な要素(ARE)は、3つのクラスに分類され得る(Chen et al., 1995): クラスIのAREは、U豊富な領域内にAUUAモチーフのいくつかの分散したコピーを含有する。C-MycおよびMyoDは、クラスIのAREを含有する。クラスIIのAREは、2個以上の重複したUUUUUA(U/A)(U/A)九量体を有する。この種のAREを含有する分子は、GM-CSFおよびTNF- α を含む。クラスIIIのAREは、あまり明確にされていない。これらのU豊富な領域は、AUUAモチーフを含有しない。C-Junおよびミオゲニンが、十分に研究されたこのクラスの例の2つである。AREに結合する大半のタンパク質がメッセンジャーを不安定にすることで知られているが、ELAVファミリーのメンバー、中でも注目すべきHuRがmRNAの安定性を向上させることが実証されている。HuRは、これら3つのクラスのAREに結合する。HuR特異的結合部位を操作して核酸分子の3'UTRに入れることで、HuR結合、ひいてはインビボでのメッセージの安定化につながる。

【0196】

3'UTRのAU豊富な要素(ARE)の導入、除去、または修飾を用いて、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの安定性を調節することができる。特定のポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを操作するとき、AREの1つ以上のコピーが導入されて、本発明のポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの安定性を低下させ、それによって、結果として生じるタンパク質の翻訳を抑制し、その産生を低減させ得る。同様に、AREは、特定および除去されるか、または変異されて、細胞内安定性を向上させ、ひいては結果として生じるタンパク質の翻訳お

よび産生を増加させることができる。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを用いた形質移入実験を関連細胞株において行うことができ、タンパク質産生を形質移入後の様々な時点でアッセイすることができる。例えば、細胞を、異なるARE操作分子で形質移入することができ、関連タンパク質に対してELISAキットを用いて形質移入後6時間、12時間、24時間、48時間、および7日時点で産生されたタンパク質をアッセイすることができる。

【0197】

3' UTRおよび三重鎖

一実施形態において、本発明のシグナル配列ポリヌクレオチドは、シグナル配列ポリヌクレオチドの3'末端上に三重鎖を含み得る。本発明の核酸の3'末端には、三重鎖が、10

【0198】

一実施形態において、本発明のシグナル配列ポリヌクレオチドは、少なくとも、第1および第2のU豊富な領域、第1と第2の領域との間の保存されたステムループ領域ならびにA豊富な領域を含み得る。第1および第2のU豊富な領域およびA豊富な領域は、対合して核酸の3'末端上に三重鎖を形成し得る。この三重鎖は、核酸を安定化し、核酸の翻訳効率を向上させ、および／または、3'末端を分解から保護し得る。例示的な三重鎖としては、転移関連肺腺癌転写物1 (MALAT1)、MEN-βおよびポリアデニル化核(PAN) RNAの三重鎖配列 (Wilusz et al., Genes & Development 2012 26:2392-2407を参照; 参照によりその全体が本明細書に組み込まれる) が挙げられるが、これに限定されない。一実施形態において本発明の修飾核酸、強化した修飾RNAまたはリボ核酸の3'末端は、TTTTTCTTTTT (配列番号1) を含む第1のU豊富な領域、TTTTGCTTTTT (配列番号2) またはTTTTGCTTTTT (配列番号3) を含む第2のU豊富な領域、AAAAAGCAAAA (配列番号4) を含むA豊富な領域を含む。別の実施形態では、本発明の核酸の3'末端は、第1のU豊富な領域、保存された領域、第2のU豊富な領域およびA豊富な領域を含む三重鎖形成構造を含む。20

【0199】

一実施形態において、三重鎖は、クローバー型の構造の前のMALAT1配列の切断から形成され得る。理論に限定される意図はないが、MALAT1は非コードの長いRNAであり、これは、切断された時に三重鎖およびtRNA様クローバー型構造を形成する。MALAT1転写物は次いで核スペckルに局在化し、tRNA様クローバー型は、細胞質に局在化するWilusz et al., Cell 2008 135(5):919-932; 参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。30

【0200】

非制限的な例として、MALAT1配列を含む本発明の核酸の末端は次いで、クローバー型構造からのRNase P切断の後、三重鎖を形成し得、これは、核酸を安定化させる (Pear et al., Non-mRNA 3' end formation: how the other half lives; WIRES RNA 2013; 参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。40

【0201】

一実施形態において、本明細書に記載されるシグナル配列ポリヌクレオチドは、MALAT1配列を含む。別の実施形態では、シグナル配列ポリヌクレオチドはポリアデニル化され得る。さらに別の実施形態では、シグナル配列ポリヌクレオチドは、ポリアデニル化されていないが、非修飾核酸またはmRNAに比べると、分解に対する耐性が増大している。

【0202】

一実施形態において、本発明のシグナル配列ポリヌクレオチドは、第2の隣接領域 (例えば、3' UTR) にMALAT1配列を含み得る。非制限的な例として、MALAT1配列はヒトまたはマウスであり得る。50

【0203】

別の実施形態では、MALAT1配列のクローバー型構造はまた、RNaseZおよびCCA添加酵素によるプロセッシングを経て、mascRNA（MALAT1-関連小細胞質RNA）と呼ばれるtRNA様構造を形成し得る。非制限的な例として、mascRNAは、タンパク質またはその断片をコードし得、および／または、マイクロRNA配列を含み得る。mascRNAは本明細書に記載される化学修飾を少なくとも1つ含み得る。

【0204】

ステムループ

一実施形態において、本発明の核酸は、限定はしないが、ヒストンステムループといった、ステムループを含み得る。ステムループは、長さが約25個または約26個のヌクレオチドであるヌクレオチド配列であり得、例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、国際公開第WO2013103659号に記載される配列番号7～17が挙げられるが、これらに限定されない。ヒストンステムループは、コード領域に関して3'（例えば、コード領域の3'末端）に位置し得る。非制限的な例として、ステムループは本明細書に記載される核酸の3'末端に位置し得る。

【0205】

一実施形態において、ステムループは第2の末端領域に位置し得る。非制限的な例として、ステムループは第2の末端領域の非翻訳領域（例えば、3'UTR）内に位置し得る。

【0206】

一実施形態において、ヒストンステムループを含む、限定はしないがmRNAといった核酸は、少なくとも1つの鎖終止ヌクレオシドの添加によって安定化され得る。理論に制限されることは望まないが、少なくとも1つの鎖終止ヌクレオシドの添加によって、核酸の分解が遅くなり得、したがって核酸の半減期が増加し得る。

【0207】

一実施形態において、鎖終止ヌクレオシドは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる国際公開第WO2013103659号で説明されるものであり得るが、これらに限定されない。別の実施形態では、本発明と一緒に使用され得る鎖終止ヌクレオシドとしては、3'-デオキシアデノシン（コルジセピン）、3'-デオキシウリジン、3'-デオキシシトシン、3'-デオキシグアノシン、3'-デオキシチミン、2', 3'-ジデオキシアデノシン、2', 3'-ジデオキシウリジン、2', 3'-ジデオキシシトシン、2', 3'-ジデオキシグアノシン、2', 3'-ジデオキシチミンといった2', 3'-ジデオキシヌクレオシド、2'-デオキシヌクレオシドまたは-O-メチルヌクレオシドが挙げられるが、これらに限定されない。

【0208】

別の実施形態では、ヒストンステムループを含む、限定はしないがmRNAといった核酸は、オリジオ（oligo）（U）の添加を阻止および／または阻害し得る修飾を核酸の3'領域に行うことで安定化され得る（例えば、国際公開第WO2013103659号を参照、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0209】

さらに別の実施形態では、ヒストンステムループを含む、限定はしないがmRNAといった核酸は、3'-デオキシヌクレオシド、2', 3'-ジデオキシヌクレオシド、3'-O-メチルヌクレオシド、3'-O-エチルヌクレオシド、3'-アラビノシドならびに当該技術分野で公知の、および／または、本明細書に記載される他の修飾ヌクレオシドで終わるオリゴヌクレオチドの添加によって安定化され得る。

【0210】

一実施形態において、本発明の核酸には、ヒストンステムループ、ポリA尾部配列および／または5'キャップ構造が含まれ得る。ヒストンステムループは、ポリA尾部配列の前および／または後ろにあり得る。ヒストンステムループおよびポリA尾部配列を含む核酸は、本明細書に記載される鎖終止ヌクレオシドを含み得る。

【0211】

別の実施形態では、本発明の核酸は、ヒストンステムループおよび5'キャップ構造を含み得る。5'キャップ構造は、限定はしないが、本明細書に記載されるおよび／または当該技術分野で知られるものを含み得る。

【0212】

一実施形態において、保存されたステムループ領域は、本明細書に記載されるmiR配列を含み得る。非制限的な例として、ステムループ領域は、本明細書に記載されるmiR配列の種配列を含み得る。別の非制限的な例では、ステムループ領域はmiR-122種配列を含み得る。

【0213】

別の実施形態では、保存されるステムループ領域は、本明細書に記載されるmiR配列を含み得、TEE配列も含み得る。

【0214】

一実施形態において、miR配列および／またはTEE配列の組み込みは、ステムループ領域の形状を変化させ、これによって翻訳が増大／低下し得る（例えば、Kedde et al., A Pumilio-induced RNA structure switch in p27-3'UTR controls miR-221 and miR-22 accessibility. Nature Cell Biology, 2010を参照、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0215】

5'キャッピング

mRNAの5'キャップ構造は、核外輸送に関与し、mRNAの安定性を向上させ、mRNAキャップ結合タンパク質（CBP）に結合し、これは、CBPのポリ（A）結合タンパク質との会合を介して細胞におけるmRNA安定性および翻訳適格性に関与し、成熟環状mRNA種を形成する。このキャップはさらに、mRNAスプライシング中に5'近位のイントロンの除去を支援する。

【0216】

内因性mRNA分子は、5'末端キャップされて、末端グアノシンキャップ残基とmRNA分子の5'末端転写センスヌクレオチドとの間に5'-ppp-5'-トリホスフェート結合をもたらし得る。その後、この5'-グアニル酸キャップがメチル化されて、N7-メチルグアニル酸残基を生成し得る。mRNAの5'末端の末端および／または前末端転写ヌクレオチドのリボース糖も、任意に2'-O-メチル化され得る。グアニル酸キャップ構造の加水分解および切断を介する5'デキャッピングは、分解するためにmRNA分子等の核酸分子を標的とし得る。

【0217】

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAの修飾は、デキャッピングを阻止する非加水分解性のキャップ構造を生成し、その結果mRNAの半減期を増加させ得る。キャップ構造の加水分解が5'-ppp-5'ホスホロジエステル結合の切断を必要とするため、修飾ヌクレオチドが、キャッピング反応中に用いられ得る。例えば、New England Biolabs (Ipswich, MA)のワクシニアキャッピング酵素を製造業者の指示に従ってα-チオーグアノシンヌクレオチドとともに用いて、5'-ppp-5'キャップにおけるホスホロチオエート結合を引き起こすことができる。α-メチルホスホネートおよびセレノホスフェートヌクレオチド等のさらなる修飾グアノシンヌクレオチドを用いることができる。

【0218】

さらなる修飾には、糖環の2'-ヒドロキシル基におけるmRNAの5'末端および／または5'前末端ヌクレオチドのリボース糖の2'-O-メチル化（上述のもの）が含まれるが、これに限定されない。複数のはっきりと異なる5'-キャップ構造を用いて、mRNA分子等の核酸分子の5'キャップを生成することができる。

【0219】

本明細書において合成キャップ類似体、化学キャップ、化学キャップ類似体、または構造もしくは機能キャップ類似体とも称されるキャップ類似体は、それらの化学構造の点で天然の（すなわち、内因性、野生型、または生理学的）5'キャップとは異なるが、キャップ機能は保持する。キャップ類似体は、化学的（すなわち、非酵素的）もしくは酵素的に合成され、かつ核酸分子に結合され得る。

【0220】

例えば、反逆方向キャップ類似体（ARCA）キャップは、5'-5'-トリホスフェート基によって結合される2個のグアニンを含むし、一方のグアニンは、N7メチル基、ならびに3'-O-メチル基（すなわち、N7, 3'-O-ジメチル-グアノシン-5'-トリホスフェート-5'-グアノシン（ $m^7G-3'mppp-G$ 、これは同等に3'-O-Me- $m^7G(5')$ ppp(5')Gと指定され得る）を含む。他方の未修飾グアニンの3'-O原子は、キャップされた核酸分子（例えば、mRNAまたはmmRNA）の5'末端ヌクレオチドに結合される。N7-および3'-O-メチル化グアニンは、キャップされた核酸分子（例えば、mRNAまたはmmRNA）の末端部分を提供する。

10

【0221】

別の例示のキャップには、mCAPがあり、これは、ARCAと同様であるが、グアノシン上に2'-O-メチル基（すなわち、N7, 2'-O-ジメチル-グアノシン-5'-トリホスフェート-5'-グアノシン、 $m^7Gm-ppp-G$ ）を有する。

【0222】

キャップ類似体がインビトロ転写反応において同時に起こる核酸分子のキャッピングを可能にする一方で、転写物の最大20%がキャップされないままである。これ、ならびに内因性細胞転写機構によって産生される核酸の内因性5'-キャップ構造とのキャップ類似体の構造差は、翻訳適格性の低下および細胞安定性の低下をもたらし得る。

20

【0223】

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、より真正の5'-キャップ構造を生成するために、酵素を用いて転写後にもキャップされ得る。本明細書で使用する時、「より真正の」という表現は、構造的または機能的のいずれかで内因性または野生型特徴を酷似させるか、または模倣する特徴を指す。すなわち、「より真正の」特徴は、先行技術の合成特徴もしくは類似体等と比較して、より良好に内因性、野生型、天然、もしくは生理学的細胞機能および／もしくは構造を表しているか、またはこれは、対応する内因性、野生型、天然または生理学的特徴を1つ以上の点においてしのぐ。本発明のより真正の5'-キャップ構造の非限定的な例には、当技術分野で既知の合成5'-キャップ構造（または野生型、天然、または生理学的5'-キャップ構造）と比較して、とりわけ、強化されたキャップ結合タンパク質の結合、増加した半減期、低下した5'エンドヌクレアーゼに対する感受性、および／または低下した5'デキャッピングを有するものがある。例えば、組換えワクシニアウイルスキャッピング酵素および組換え2'-O-メチルトランスフェラーゼ酵素は、mRNAの5'末端ヌクレオチドとグアニンキャップヌクレオチドとの間に基準の5'-5'-トリホスフェート結合を生成し得、キャップグアニンは、N7メチル化を含む、mRNAの5'末端ヌクレオチドは、2'-O-メチルを含む。そのような構造は、キャップ1構造と称される。このキャップは、例えば、当技術分野で既知の他の5'-キャップ類似体構造と比較して、より高い翻訳適格性および細胞安定性、ならびに細胞炎症誘発性サイトカインの活性化の低下をもたらす。キャップ構造には、 $7mG(5')ppp(5')N$, $pN2p$ （キャップ0）、 $7mG(5')ppp(5')N1mpNp$ （キャップ1）、および $7mG(5')-ppp(5')N1mpN2mp$ （キャップ2）が含まれる。

30

40

【0224】

シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAが転写後にキャップされ得、かつこのプロセスがより効率的であるため、ほぼ100%のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAがキャップされ得る。これは、キャッ

50

ブ類似体がインビトロ転写反応の過程でmRNAに結合されるとき約80%とは大いに異なる。

【0225】

本発明に従って、5'末端キャップは、内因性キャップまたはキャップ類似体を含み得る。本発明に従って、5'末端キャップは、グアニン類似体を含み得る。有用なグアニン類似体には、イノシン、N1-メチルグアノシン、2'フルオログアノシン、7-デアザグアノシン、8-オキソグアノシン、2-アミノグアノシン、LNA-グアノシン、および2-アジドグアノシンが含まれる。

【0226】

ウイルス配列

限定はしないが大麦矮萎縮ウイルス(BYDV-PAV)の翻訳エンハンサー配列といったウイルス配列は、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの3'UTRに操作および挿入され得、インビトロおよびインビボで構築物の翻訳を刺激し得る。形質移入実験を関連細胞株において行うことができ、ELISAによってタンパク質産生を形質移入後12時間、24時間、48時間、72時間、および7日時点でアッセイすることができる。

【0227】

IRES配列

さらに、内部リボソーム進入部位(IRES)を含有し得るシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAが提供される。最初に特徴的なピコルナウイルスRNAと特定されたIRESは、5'キャップ構造の不在でタンパク質合成を開始するときに重要な役割を果たす。IRESは、mRNAの唯一のリボソーム結合部位として働き得るか、または複数のリボソーム結合部位のうちの1つの役割を果たし得る。2個以上の機能的リボソーム結合部位を含有するシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、リボソーム(「多シストロン性核酸分子」)によって独立して翻訳されるいくつかの腫瘍学関連ペプチドまたは腫瘍学関連ポリペプチドをコードし得る。シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAにIRESが提供されるとき、第2の翻訳可能な領域がさらに任意に提供される。本発明に従って用いられ得るIRES配列の例には、制限なく、ピコルナウイルス(例えば、FMDV)、ペストウイルス(CFFV)、ポリオウイルス(PV)、脳心筋炎ウイルス(ECMV)、口蹄疫ウイルス(FMDV)、C型肝炎ウイルス(HCV)、豚コレラウイルス(CSFV)、マウス白血病ウイルス(MLV)、サル免疫不全ウイルス(SIV)、またはコオロギ麻痺ウイルス(CrPV)由来のものが挙げられる。

【0228】

ポリA尾部

RNA処理中、長いアデニンヌクレオチド鎖(ポリA尾部)が、安定性を向上させるためにmRNA分子といったポリヌクレオチドに付加され得る。転写直後、転写物の3'末端が切断されて3'ヒドロキシルを遊離させ得る。その後、ポリAポリメラーゼは、アデニンヌクレオチド鎖をRNAに付加する。ポリアダニル化と呼ばれるこのプロセスは100~250残基長であり得るポリA尾部を付加する。

【0229】

特有のポリA尾部の長さが、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAにある特定の利点を提供することが見出されている。

【0230】

概して、本発明のポリA尾部の長さは、30ヌクレオチド長を超える。別の実施形態において、ポリA尾部は、35ヌクレオチド長を超える(例えば、少なくとも約35、40、45、50、55、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,500、およ

び3,000ヌクレオチド長であるか、またはこれらを超える)。いくつかの実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、約30～約3,000個のヌクレオチド(例えば、30～50、30～100、30～250、30～500、30～750、30～1,000、30～1,500、30～2,000、30～2,500、50～100、50～250、50～500、50～750、50～1,000、50～1,500、50～2,000、50～2,500、50～3,000、100～500、100～750、100～1,000、100～1,500、100～2,000、100～2,500、100～3,000、500～750、500～1,000、500～1,500、500～2,000、500～2,500、500～3,000、1,000～1,500、1,000～2,000、1,000～2,500、1,000～3,000、500～750、500～1,000、500～1,500、500～2,000、500～2,500、500～3,000、1,000～1,500、1,000～2,000、1,000～2,500、1,000～3,000、1,500～2,000、1,500～2,500、1,500～3,000、2,000～3,000、2,000～2,500、および2,500～3,000個)を含む。

【0231】

一実施形態において、ポリA尾部は、全体のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの長さに対して設計される。この設計は、コーディング領域の長さ、特定の特徴もしくは領域の長さ(第1もしくは隣接領域等)に基づき得るか、またはポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNAから発現した最終産物の長さに基づき得る。

【0232】

この文脈において、ポリA尾部は、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNA、またはその特徴よりも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、もしくは100%長い長さであり得る。ポリA尾部は、それが属するポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの画分としても設計され得る。この文脈において、ポリA尾部は、構築物の全長または構築物の全長からポリA尾部を差し引いた長さの10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または90%以上であり得る。

【0233】

一実施形態において、操作した結合部位、および/またはシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAのポリA結合タンパク質のための複合体化を用いて発現を強化し得る。操作した結合部位は、核酸および/またはmRNAの局所微小環境のリガンドのための結合部位として作用し得るセンサー配列であり得る。非制限的な例として、核酸および/またはmRNAは、少なくとも1つの操作した結合部位を含み、ポリA結合タンパク質(PABP)およびその類似体の結合親和性を変化し得る。少なくとも1つの操作した結合部位の組み込みは、PABPおよびその類似体の結合親和性を増大し得る。

【0234】

さらに、複数のはっきりと異なるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、ポリA尾部の3'末端で修飾されたヌクレオチドを用いて3'末端を介してPABP(ポリA結合タンパク質)に結合され得る。形質移入実験を関連細胞株において行うことができ、ELISAによってタンパク質産生を形質移入後12時間、24時間、48時間、72時間、および7日時点でアッセイすることができる。非制限的な例として、形質移入実験を利用して、少なくとも1つの操作した結合部位の添加の結果としての、PABPまたはその類似体の結合親和性に対する効果を評価し得る。

【0235】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドおよび一次構築物は、ポリA-Gカルテットを含むように設計される。G四重項は、DNAおよびRNAの両方においてG豊富な配列によって形成され得る4個のグアニンヌクレオチドの環状水素結合アレイである。この実施形態において、G四重項は、ポリA尾部の終端に組み込まれる。結果として生じるmmRNA構築物は、安定性、タンパク質産生、および様々な時点で

の半減期他のパラメータについてアッセイされる。ポリAーGカルテットが、120個のヌクレオチドのポリA尾部を単独で用いてもたらされるタンパク質産生の少なくとも75%に相当するタンパク質産生をもたらすことが見出されている。

【0236】

一実施形態において、本発明の核酸またはmRNAはポリA尾部を含み得、鎖終止ヌクレオシドの添加によって安定化され得る。ポリA尾部を有する核酸および／またはmRNAはさらに5'キャップ構造を含み得る。

【0237】

別の実施形態では、本発明の核酸またはmRNAは、ポリAーGカルテットを含み得る。ポリAーGカルテットを有する核酸および／またはmRNAはさらに5'キャップ構造を含み得る。

10

【0238】

一実施形態において、ポリA尾部またはポリAーGカルテットを含む核酸またはmRNAを安定化させるために用いられ得る鎖終止ヌクレオシドは、限定はしないが、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる国際公開第WO2013103659号に記載されるものであり得る。別の実施形態では、本発明と一緒に用いられ得る鎖終止ヌクレオシドとしては、限定はしないが、3'-デオキシアデノシン（コルジセピン）、3'-デオキシウリジン、3'-デオキシシトシン、3'-デオキシグアノシン、3'-デオキシチミン、2', 3'-ジデオキシアデノシン、2', 3'-ジデオキシウリジン、2', 3'-ジデオキシシトシン、2', 3'-ジデオキシグアノシン、2', 3'-ジデオキシチミンといった2', 3'-ジデオキシヌクレオシド、2'-デオキシヌクレオシド、または-O-メチルヌクレオシドが挙げられる。

20

【0239】

別の実施形態では、ポリA尾部またはポリAーGカルテットを含む、限定はしないが、mRNAといった核酸を、オリゴ（U）の添加を阻止および／または阻害し得る、核酸の3'領域への修飾によって安定化し得る（例えば、国際公開第WO2013103659号参照、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0240】

さらに別の実施形態では、ポリA尾部またはポリAーGカルテットを含む、限定はしないが、mRNAといった核酸を、3'-デオキシヌクレオシド、2', 3'-ジデオキシヌクレオシド、3'-O-メチルヌクレオシド、3'-O-エチルヌクレオシド、3'-アラビノシドならびに当該技術分野で知られる、および／または、本明細書に記載される他の修飾ヌクレオシドの添加によって安定化し得る。

30

【0241】

定量化

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、1つ以上の体液由来のエクソソームにおいて定量化され得る。本明細書で使用するとき、「体液」には、末梢血、血清、血漿、腹水、尿、脳脊髄液（CSF）、痰、唾液、骨髄、滑液、房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液、前立腺液、クーパー腺液または射精前液、汗、糞便、毛髪、涙液、囊胞液、胸膜および腹水、心嚢液、リンパ液、粥状液、乳糜、胆汁、間質液、帯下、膿汁、皮脂、嘔吐物、膺分泌物、粘膜分泌物、水便、腓液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引物、胚盤腔液、および臍帯血が含まれる。あるいは、エクソソームは、肺、心臓、脾臓、胃、腸、膀胱、腎臓、卵巣、睾丸、皮膚、結腸、乳房、前立腺、脳、食道、肝臓、および胎盤からなる群から選択される器官から回収され得る。

40

【0242】

定量化方法において、2mLを超えない試料が対象から得られ、エクソソームが、サイズ排除クロマトグラフィー、密度勾配遠心分離、分画遠心分離、ナノ膜限外濾過、免疫吸収捕獲、親和性精製、微小流体分離、またはこれらの組み合わせによって単離される。分析において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAのレベ

50

ルまたは濃度は、投与された構築物の発現レベル、存在、不在、切断、または改変であり得る。このレベルを1つ以上の臨床表現型またはヒト疾患バイオマーカーについてのアッセイと相関させることは、有利である。このアッセイが、構築物特異的プローブ、サイトメトリー、q R T - P C R、実時間 P C R、P C R、フローサイトメトリー、電気泳動、質量分析、またはこれらの組み合わせを用いて行われ得る一方で、エクソソームは、酵素結合免疫吸着測定法 (E L I S A) 等の免疫組織化学法を用いて単離され得る。エクソソームは、サイズ排除クロマトグラフィー、密度勾配遠心分離、分画遠心分離、ナノ膜限外濾過、免疫吸収捕獲、親和性精製、微小流体分離、またはこれらの組み合わせによっても単離され得る。

【0243】

10

これらの方法は、残存しているか、または送達されたシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmRNAのレベルをリアルタイムで監視する能力を研究者に提供する。これは、本発明のポリヌクレオチド、一次構築物、またはmRNAが構造および/または化学修飾に起因して内因性形態とは異なるといった理由から、可能である。

【0244】

I I . シグナルセンサーポリヌクレオチドの設計および合成

本発明に従って用いるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmRNAは、化学合成、一般にインビトロ転写 (I V T) と称される酵素合成、またはより長い前駆体の酵素的もしくは化学的切断等を含むが、これらに限定されない任意の利用可能な技法に従って調製され得る。RNAを合成する方法は、当技術分野において既知である (例えば、いずれも参照により本明細書に組み込まれる、Gait, M. J. (ed.) *Oligonucleotide synthesis: a practical approach*, Oxford [Oxfordshire], Washington, DC: IRL Press, 1984、およびHerdewijn, P. (ed.) *Oligonucleotide synthesis: methods and applications, Methods in Molecular Biology*, v. 288 (Clifton, N. J.) Totowa, N. J.: Humana Press, 2005を参照のこと)。

20

【0245】

本発明のシグナルセンサー一次構築物の設計および合成のプロセスは、概して、遺伝子構築ステップ、mRNA産生ステップ (修飾を伴うか、または伴わない)、および精製ステップを含む。酵素合成方法において、目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする標的シグナルセンサーポリヌクレオチド配列が、増幅されてcDNA鋳型を産生するベクターへの組み込みのために最初に選択される。任意に、標的シグナルセンサーポリヌクレオチド配列および/または任意の隣接配列は、コドン最適化され得る。その後、cDNA鋳型を用いて、インビトロ転写 (I V T) によってmRNAを産生する。産生後、mRNAは、精製および浄化プロセスを経り得る。これらのステップは、以下でより詳細に提供される。

30

【0246】

遺伝子構築

遺伝子構築ステップは、遺伝子合成、ベクター増幅、プラスミド精製、プラスミド線形化および浄化、ならびにcDNA鋳型合成および浄化を含み得るが、これらに限定されない。

40

【0247】

遺伝子合成

目的とする腫瘍学関連ポリペプチドまたは標的が産生のために選択された時点で、シグナルセンサー一次構築物が設計される。一次構築物内で、目的とするポリペプチドをコードする結合ヌクレオチドの第1の領域は、選択された核酸 (DNAまたはRNA) 転写物のオープンリーディングフレーム (O R F) を用いて構築され得る。O R Fは、野生型O R F、アイソフォーム、変異形、またはその断片を含み得る。本明細書で使用するとき、「オープンリーディングフレーム」または「O R F」は、目的とする腫瘍学関連ポリペ

50

チドをコードすることができる核酸配列（DNAまたはRNA）を指すよう意図される。ORFは、多くの場合、開始コドンATGで始まり、ナンセンスまたは終止コドンもしくはシグナルで終わる。

【0248】

さらに、第1の領域のヌクレオチド配列は、コドン最適化され得る。コドン最適化方法は、当技術分野において既知であり、いくつかの目標のうちの1つ以上を達成する取り組みにおいて有用であり得る。これらの目標には、標的および宿主生物体におけるコドン頻度を一致させて適切な折り畳みを確実にすること、GC含量を付勢させてmRNAの安定性を高めるか、または二次構造を減少させること、遺伝子構築または発現を障害し得る縦列反復コドンまたは塩基泳動を最小限に抑えること、転写および翻訳制御領域をカスタマイズすること、タンパク質輸送配列を挿入または除去すること、コードされたタンパク質における翻訳後修飾部位（例えば、グリコシル化部位）を除去／付加すること、タンパク質ドメインを付加、除去、または組み替えること、制限部位を挿入するか、または欠失させること、リボソーム結合部位およびmRNA分解部位を修飾すること、翻訳速度を調節してタンパク質の様々なドメインの適切な折り畳みを可能にすること、あるいはmRNA内の問題の二次構造を減少させるか、または排除することが含まれる。コドン最適化ツール、アルゴリズム、およびサービスは、当技術分野において既知であり、非限定的な例には、GeneArtのサービス（Life Technologies）および／またはDNA2.0（Menlo Park CA）が挙げられる。一実施形態において、ORF配列は、最適化アルゴリズムを用いて最適化される。各アミノ酸のコドン選択肢が表1

表1. コドン選択肢

【表0001】

アミノ酸	単一文字コード	コドン選択肢
イソロイシン	I	ATT, ATC, ATA
ロイシン	L	CTT, CTC, CTA, CTG, TTA, TTG
バリン	V	GTT, GTC, GTA, GTG
フェニルアラニン	F	TTT, TTC
メチオニン	M	ATG
システイン	C	TGT, TGC
アラニン	A	GCT, GCC, GCA, GCG
グリシン	G	GGT, GGC, GGA, GGG
プロリン	P	CCT, CCC, CCA, CCG
トレオニン	T	ACT, ACC, ACA, ACG
セリン	S	TCT, TCC, TCA, TCG, AGT, AGC
チロシン	Y	TAT, TAC
トリプトファン	W	TGG
グルタミン	Q	CAA, CAG
アスパラギン	N	AAT, AAC
ヒスチジン	H	CAT, CAC
グルタミン酸	E	GAA, GAG
アスパラギン酸	D	GAT, GAC
リジン	K	AAA, AAG
アルギニン	R	CGT, CGC, CGA, CGG, AGA, AGG
セレノシステイン	Sec	セレノシステイン挿入要素(SECIS)の存在下でのmRNA中のUGA
終止コドン	終止	TAA, TAG, TGA

【0249】

一実施形態において、ヌクレオチド配列をコドン最適化した後、制限部位を含む領域に関してさらに評価し得る。配列から制限部位を取り除くために、制限部位内の少なくとも1つのヌクレオチドを別のヌクレオチドで置換し得るが、ヌクレオチドの置換はコドン最適化ヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を改変する。

【0250】

本発明のいくつかの実施形態において有益であると見なされ得る特徴は、シグナルセン

サ—一次構築物によってコードされ得、第1または第2の隣接領域としてORFに隣接し得る。この隣接領域は、ORFの最適化前および／または後にシグナルセンサ—一次構築物に組み込まれ得る。シグナルセンサ—一次構築物が5'隣接領域と3'隣接領域の両方を含有する必要はない。そのような特徴の例には、非翻訳領域(UTR)、コザック配列、オリゴ(dT)配列、および検出可能なタグが挙げられるが、これらに限定されず、XbaI認識を有し得る複数のクローニング部位も挙げられ得る。

【0251】

いくつかの実施形態において、5'UTRおよび／または3'UTRが、隣接領域として提供され得る。複数の5'または3'UTRが、隣接領域に含まれ得、同一または異なる配列であり得る。隣接領域の任意の部分(そのような部分がない場合を含み)が、コドン最適化され得、それらのいずれも、独立して、コドン最適化の前および／または後に1つ以上の異なる構造または化学修飾を含有し得る。特徴の組み合わせは、第1および第2の隣接領域に含まれ得、他の特徴内に含有され得る。例えば、ORFは、ポリA尾部の鋳型付加のために、強力なコザック翻訳開始シグナルを含有し得る5'UTRおよび／またはオリゴ(dT)配列を含み得る3'UTRに隣接し得る。

【0252】

表2および3は、隣接領域として本発明のシグナルセンサ—一次構築物において利用され得る例示のUTRの一覧を提供する。本発明の5'非翻訳領域の代表的な一覧が表2に示される。A、T、C、もしくはGを含む1個以上のヌクレオチドが末端に付加されるか、または末端から除去される5'UTRの変異形が利用され得る。

表2. 5'非翻訳領域

【表0002】

5'UTR 識別名	名称/説明	配列	配列番号
天然	野生型 UTR	野生型配列を参照	-
5UTR-001	合成 UTR	GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAG AAGAAATATAAGAGCCACC	1
5UTR-002	上流 UTR	GGGAGATCAGAGAGAAAAGAAGAGTAA GAAGAAATATAAGAGCCACC	2
5UTR-003	上流 UTR	GGAATAAAAGTCTCAACACAACATATAC AAAACAAACGAATCTCAAGCAATCAAGC ATTCTACTTCTATTGCAGCAATTTAAATC ATTTCTTTTAAAGCAAAAGCAATTTCTG AAAATTTTCAACATTTACGAACGATAGCA AC	3
5UTR-004	上流 UTR	GGGAGACAAGCUUGGCAUCCGGUACU GUUGGUAAAGCCACC	4

【0253】

本発明の3'非翻訳領域の代表的な一覧が表3に示される。A、T、C、もしくはGを含む1個以上のヌクレオチドが末端に付加されるか、または末端から除去される3'UTRの変異形が利用され得る。

表3. 3'非翻訳領域

【表 0 0 0 3 - 1】

3'UTR 識別名	名称/説明	配列	配列 番号
3UTR- 001	クレアチンキナーゼ	GCGCCTGCCACCTGCCACCGACTGCTGGAACC CAGCCAGTGGGAGGGCCTGGCCACCAGAGTC CTGCTCCCTCACTCCTCGCCCCGCCCCCTGTCC CAGAGTCCCACCTGGGGGCTCTCTCCACCCTTC TCAGAGTTCCAGTTTCAACCAGAGTTCCAACCA ATGGGCTCCATCCTCTGGATTCTGGCCAATGAA ATATCTCCCTGGCAGGGTCTCTTCTTTTCCCA GAGCTCCACCCCAACCAGGAGCTCTAGTTAATG GAGAGCTCCCAGCACACTCGGAGCTTGTGCTTT GTCTCCACGCAAAGCGATAAATAAAGCATTGG TGGCCTTTGGTCTTTGAATAAAGCCTGAGTAGG AAGTCTAGA	5
3UTR- 002	ミオグロビン	GCCCCGCGCTCCCACCCCAACCATCTGGGC CCCGGGTTCAAGAGAGAGCGGGTCTGATCTC GTGTAGCCATATAGAGTTTGCTTCTGAGTGTCT GCTTTGTTTAGTAGAGGTGGCAGGAGGAGCT GAGGGGCTGGGGCTGGGGTGTGAAGTTGGCT TTGCATGCCAGCGATGCGCCTCCCTGTGGGAT GTCATCACCTGGGAACCGGAGTGGCCCTTG GCTCACTGTGTTCTGCATGGTTTGGATCTGAAT TAATTGTCCTTCTTCTAAATCCCAACCGAACTT CTTCCAACCTCCAACTGGCTGTAACCCCAAA CCAAGCCATTAACTACACCTGACAGTAGCAATT GTCTGATTAATCACTGGCCCTTGAAGACAGCA GAATGTCCCTTTGCAATGAGGAGGAGATCTGGG CTGGGCGGGCCAGCTGGGGAAGCATTGACTA TCTGGAACCTTGTGTGCTCCTCAGGTATGGC AGTGACTCACCTGGTTTAAATAAACCAACCTGC AACATCTCATGGTCTTTGAATAAAGCCTGAGTA GGAAGTCTAGA	6
3UTR- 003	α -アクチン	ACACACTCCACCTCCAGCACGCGACTTCTCAGG ACGACGAATCTTCTCAATGGGGGGGCGGCTGA GCTCCAGCCACCCCGCAGTCACTTTCTTTGTAA CAACTTCCGTTGCTGCCATCGTAAACTGACACA GTGTTTATAACGTGTACATACATTAACCTATTAC CTCATTTTGTATTTTTCGAAACAAAGCCCTGTG GAAGAAAATGGAAAACCTTGAAGAAGCATTAAG TCATTCTGTAAAGCTGCGTAAATGGTCTTTGAA TAAAGCCTGAGTAGGAAGTCTAGA	7
3UTR- 004	アルブミン	CATCACATTTAAAAGCATCTCAGCCTACCATGA GAATAAGAGAAAAGAAATGAAGATCAAAAGCTT ATTCACTGTGTTTTCTTTTCGTTGGTGTAAGC CAACACCCTGTCTAAAAAACATAAATTTCTTTAA TCATTTTGCCTCTTTTCTCTGTGCTTCAATTAAT AAAAAATGAAAGAAATCTAATAGAGTGGTACAG CACTGTTATTTTCAAAGATGTGTTGCTATCCTG AAAATTCTGTAGGTTCTGTGGAAGTTCCAGTGT TCTCTCTTATCCACTTCGGTAGAGGATTCTAG	8

10

20

30

【表 0 0 0 3 - 2】

		TTTCTTGTGGGCTAATTAAATAAATCATTAAATAC TCTTCTAATGGTCTTTGAATAAAGCCTGAGTAG GAAGTCTAGA	
3UTR- 005	α-グロビン	GCTGCCTTCTGCGGGGCTTGCCTTCTGGCCATG CCCTTCTTCTCTCCCTTGCACCTGTACCTCTTGG TCTTTGAATAAAGCCTGAGTAGGAAGCGGGCCG CTCGAGCATGCATCTAGA	9
3UTR- 006	G-CSF	GCCAAGCCCTCCCCATCCCATGTATTTATCTCT ATTTAATATTTATGTCTATTTAAGCCTCATATTT AAAGACAGGGAAGAGCAGAACGGAGCCCCAGG CCTCTGTGTCCTTCCCTGCATTTCTGAGTTTCAT TCTCCTGCCTGTAGCAGTGAGAAAAAGCTCCTG TCCTCCCATCCCTGGACTGGGAGGTAGATAGG TAAATACCAAGTATTTTACTATGACTGCTCCC CAGCCCTGGCTCTGCAATGGGCACTGGGATGA GCCGCTGTGAGCCCTGGTCTGAGGGTCCCCA CCTGGGACCCTTGAGAGTATCAGGTCTCCACG TGGGAGACAAGAAATCCCTGTTAATATTTAAA CAGCAGTGTTCCCATCTGGGTCTTGCACCCC TCACTCTGGCCTCAGCCGACTGCACAGCGGCC CTGCATCCCTTGGCTGTGAGGCCCTGGACAA GCAGAGGTGGCCAGAGCTGGGAGGCATGGCCC TGGGGTCCCACGAATTTGCTGGGGAATCTCGTT TTTCTTCTTAAGACTTTTGGGACATGGTTTGACT CCCGAACATCACCGACGCGTCTCCTGTTTTTCT GGGTGGCCTCGGGACACCTGCCCTGCCCCAC GAGGGTCAGGACTGTGACTCTTTTAGGGCCAG GCAGGTGCCTGGACATTTGCCTTGCTGGACGGG GACTGGGATGTGGAGGGAGCAGACAGGAGG AATCATGTGAGGCCTGTGTGAAAGGAAGCTC CACTGTCACCCCTCCACCTCTTCACCCCCACTC ACCAGTGTCCCCTCCACTGTCACATTGTAAGT AACTTCAGGATAATAAAGTGTTCCTCCATGG TCTTTGAATAAAGCCTGAGTAGGAAGCGGGCCG CTCGAGCATGCATCTAGA	10
3UTR- 007	Col1a2:コラー ゲン、I型、α2	ACTCAATCTAAATTAAGAAAGAAATTTGA AAAACTTTCTCTTTGCCATTTCTTCTTCTTCTT TTTTAACTGAAAGCTGAATCCTTCCATTCTTCT GCACATCTACTTGCTTAAATTGTGGCAAAAGA GAAAAAGAAAGGATTGATCAGAGCATTGTGCAAT ACAGTTTCATTAACTCCTTCCCCGCTCCCCA AAAATTTGAATTTTTTTTCAACACTCTTACACC TGTTATGAAAAATGTCAACCTTTGTAAGAAAC CAAAATAAAAAATTGAAAAATAAAACCATAAAC ATTTGCACCACTTGTGGCTTTTGAATATCTTCCA CAGAGGGAAGTTTAAACCCAAACTTCCAAAGG TTTAAACTACCTCAAAACACTTTCCCATGAGTGT GATCCACATTGTTAGGTGCTGACCTAGACAGAG ATGAACTGAGGTCTTGTGTTTGTGTTTCATAA TACAAAGGTGCTAATTAATAGTATTTAGATAC TTGAAGAATGTTGATGGTGCTAGAAGAATTTGA	11

10

20

30

【表 0 0 0 3 - 3】

		GAAGAAATACTCCTGTATTGAGTTGTATCGTGT GGTGTATTTTTTAAAAAATTTGATTTAGCATTCA TATTTTCCATCTTATTCCTCAATTTAAAGTATGCA GATTATTTGCCCAAATCTTCTTCAGATTGAGCAT TTGTTCTTTGCCAGTCTCATTTTCATCTTCTTCC ATGGTTCCACAGAAAGCTTTGTTTCTTGGGCAAG CAGAAAAATTAAATTGTACCTATTTTGTATATGT GAGATGTTTAAATAAATTGTGAAAAAATGAAA TAAAGCATGTTTGGTTTTCCAAAAAGACATAT	
3UTR- 008	Col6a2;コラー ゲン、VI型、α2	CGCCGCGCGCCCGGGCCCCGCACTCGAGGGTCC TGAGCCCAACCCCTCCATGGTGCTAAGCGGGCC CGGGTCCACACGCGCCAGCACCCTGCTCACTC GGACGACGCCCTGGGCTGCACCTCTCCAGCTC CTCCACGCGGTCCCGTAGCCCCGGCCCCCG CCCAGCCCCAGGTCTCCCCAGGCCCTCCGAGG CTGCCCCGGCTCCCTCCCTGCAGCCATCCCA AGGCTCCTGACCTACCTGGCCCTGAGCTCTGG AGCAAGCCCTGACCCAATAAAGGCTTTGAACCC AT	12
3UTR- 009	RPN1;リボホリ ンI	GGGGCTAGAGCCCTCTCCGCACAGCGTGGAGA CGGGGCAAGGAGGGGGGTATTAGCATTGGTG GTTTTGTTTTGCTTTGTTTAAAGCCGTGGGAAA ATGGCACAACCTTACCTCTGTGGGAGATGCAAC ACTGAGAGCCAAGGGGTGGGAGTTGGGATAAT TTTTATATAAAAGAAGTTTTTCCACTTTGAATTG CTAAAAGTGGCATTTTTCTATGTGCAGTCACT CCTCTCATTCTAAAAATAGGGACGTGGCCAGGC ACGGTGGCTCATGCCTGTAATCCAGCACTTGT GGAGGCCGAGGCAGGCGGCTCACGAGGTCAGG AGATCGAGACTATCCTGGCTAACACGGTAAAAAC CCTGTCTCTACTAAAAAGTACAAAAAATTAGCTG GGCGTGGTGGTGGGCACCTGTAGTCCCAGCTA CTCGGGAGGCTGAGGCAGGAGAAAGGCATGAA TCCAAGAGGCAGAGCTTGCACTGAGCTGAGATC ACGCCATTGCACTCCAGCCTGGGCAACAGTGT AAGACTCTGTCTCAAATATAAATAAATAAATAA ATAAATAAATAAATAAATAAATAAAGCGGAGA TGTTGCCCTCAA	13
3UTR- 010	LRP1;低密度リ ボタンパク質受 容体関連タンパ ク質1	GGCCCTGCCCCGTGCGACTGCCCCAGAAAGC CTCCTGCCCCCTGCCAGTGAAGTCTTCACTGA GCCCCTCCCCAGCCAGCCCTTCCCTGCCCCCGC CGGATGTATAAATGTAAAAATGAAGGAATTACA TTTTATATGTGAGCGAGCAAGCCGGCAAGCGAG CACAGTATTATTTCTCCATCCCCTCCCTGCCTGC TCCTTGGCACCCCCATGCTGCCTTCAGGGAGAC AGGCAGGAGGGCTTGGGGCTGCACCTCCTAC CCTCCCACAGAACGCACCCCACTGGGAGAGCT GGTGGTGCAACCTTCCCCCTCCCTGTATAAGACA CTTTGCCAAGGCTCTCCCCTCTCGCCCCATCCC TGCTTGCCCGCTCCACAGCTTCCCTGAGGGCTA ATTCTGGGAAGGAGAGTTCTTTGCTGCCCTG	14

10

20

30

【表 0 0 0 3 - 4】

		TCTGGAAGACGTGGCTCTGGGTGAGGTAGGCG GGAAAGGATGGAGTGTTTTAGTTCTTGGGGGAG GCCACCCCAAACCCAGCCCCAACTCCAGGGGC ACCTATGAGATGGCCATGCTCAACCCCTCCC AGACAGGCCCTCCCTGTCTCCAGGGCCCCACC GAGGTTCCAGGGCTGGAGACTTCCTCTGGTAA ACATTCTCCAGCCTCCCTCCCTGGGGACGC CAAGGAGGTGGGCCACACCCAGGAAGGGAAG CGGGCAGCCCCGTTTGGGGACGTGAACGTTTT AATAATTTTGGCTGAATTCCTTTACAACATAA ACACAGATATTGTTATAAATAAAATTGT	
3UTR- 011	Nnt1;カルジオ トロフィン様サ イトカイン因子 1	ATATTAAGGATCAAGCTGTAGCTAATAATGCC ACCTCTGCAGTTTTGGGAACAGGCAATAAAGT ATCAGTATACATGGTGATGTACATCTGTAGCAA AGCTCTTGGAGAAATGAAGACTGAAGAAAAGCA AAGCAAAAAGTGTATAGAGAGATTTTCAAAAG CAGTAATCCCTCAATTTTAAAAAAGGATTGAAA ATTCTAAATGTCTTTCTGTGCATATTTTTGTGT TAGGAATCAAAAGTATTTTATAAAGGAGAAAAG AACAGCCTCATTTTAGATGTAGTCCTGTTGGAT TTTTTATGCCTCCTCAGTAACCAGAAATGTTTTA AAAACTAAGTGTTAGGATTTCAAGACAACAT TATACATGGCTCTGAAATATCTGACACAATGTA AACATTGCAGGCACCTGCATTTTATGTTTTTTT TTCAACAAATGTGACTAATTTGAACTTTTATGA ACTTCTGAGCTGTCCCTTGCAATTCAACCGCA GTTTGAATTAATCATATCAAATCAGTTTAAATTT TTTAAATTGACTTCAGAGTCTATATTCAAGGG CACATTTTCTCACTACTATTTAATACATTAAAG GACTAAATAATCTTTCAGAGATGCTGGAACAA ATCATTTGCTTTATATGTTTCATTAGAATACCAA TGAAACATACAACCTGAAAATTAGTAATAGTAT TTTTGAAGATCCCATTCTAATTGGAGATCTCTT TAATTTGATCAACTTATAATGTGTAGTACTATA TTAAGTGCACTTGAGTGGAATTCAACATTTGAC TAATAAAATGAGTTCATCATGTTGCAAGTGAT GTGGCAATTATCTCTGGTGACAAAAGAGTAAAA TCAAAATTTTCTGCCTGTACAAATATCAAGGA AGACCTGCTACTATGAAATAGATGACATTAATC TGTCTTCACTGTTTATAATACGGATGGATTTTT TTCAAATCAGTGTGTGTTTGAGGTCTTATGTA ATTGATGACATTTGAGAGAAATGGTGGCTTTTT TTAGCTACCTCTTTGTTCAATTAAAGCACCAGTAA AGATCATGTCTTTTATAGAAGTGATGATTTTCT TTGTGACTTTGCTATCGTGCCTAAAGCTCTAAA TATAGGTGAATGTGTGATGAATACTCAGATTAT TTGTCTCTCTATATAATTAGTTTGGTACTAAGTT TCTCAAAAAATTATTAACACATGAAAGACAATC TCTAAACAGAAAAAGAGTAGTACAAATTTTG TTACTGTAATGCTCGCGTTTAGTGAGTTTAAAA CACACAGTATCTTTTGGTTTATAATCAGTTTCT	15

10

20

30

【表 0 0 0 3 - 5】

	ATTTTGCTGTGCCTGAGATTAAGATCTGTGTAT GTGTGTGTGTGTGTGTGTGCCTTTGTGTGTTAA AGCAGAAAAAGACTTTTTTAAAAAGTTTTAAGTGA TAAATGCAATTTGTTAATTGATCTTAGATCACTA GTAACTCAGGGCTGAATTATACCATGTATATT CTATTAGAAAGAAAGTAAACACCATCTTTATTCCT GCCCTTTTCTCTCTCAAAGTAGTTGTAGTTAT ATCTAGAAAGAACCAATTTTGATTTCTTGAAAA GGTAGTTCCTGCACTCAGTTTAAACTAAAAATA ATCATACTTGGATTTTATTTATTTTGTCTAGT AAAAAATTTAATTTATATATATTTTATTTAGTA TTATCTTATTCTTTGCTATTTGCCAATCCTTTGT CATCAATTGTGTTAAATGAATTGAAAAATTCATG CCCTGTTCAATTTTATTTACTTTATTGTTAGGA TATTTAAAGGATTTTGTATATATAATTTCTTAA ATTAATATTCAAAAAGGTAGTGGACTTAGATT ATAAATTATGGCAAAAAATCTAAAAACAACAAA ATGATTTTTATACATTCTATTTCAATTATTCCTCT TTTTCCAATAAGTCATACAATTGGTAGATATGA CTTATTTTATTTTGTATTATTCATATATCTTTA TGATATTTAAGTATAAATAAATAAAAAAATTTAT TGTACCTTATAGTCTGTCAACAAAAA TTATCTGTAGGTAGTGAAATGCTAATGTTGATT TGTCTTTAAGGGCTTGTTAACTATCCTTTATTTT CTCATTTGTCTTAAATTAGGAGTTTGTGTTAAA TTACTCATCTAAGCAAAAAATGTATATAATCCC ATTACTGGGTATATACCCAAAGGATTATAAATC ATGCTGCTATAAAGACACATGCACACGTATGTT TATTGCAGCACTATTCACAATAGCAAAAGACTTG GAACCAACCCAAATGTCCATCAATGATAGACTT GATTAAGAAAAATGTGCACATATACCCATGGAA TACTATGCAGCCATAAAAAAGGATGAGTTCATG TCCTTTGTAGGGACATGGATAAAGCTGAAACC ATCATTTCTGAGCAAACTATTGCAAGGACAGAAA ACCAAACACTGCATGTTCTCACTCATAGGTGGG AATTGAACAATGAGAACACTTGGACACAAGGTG GGGAACACCACACACCAGGGCTGTCTAGGGG TGGGGGGAGTGGGGAGGGATAGCATTAGGAGA TATACCTAATGTAAATGATGAGTTAATGGGTGC AGCACACCAACATGGCACATGTATACATATGTA GCAAACCTGCACGTTGTGCACATGTACCCTAGA ACTTAAAGTATAATTAAAAAAAGAAAAACA GAAGCTATTTATAAGAAATTTTGTGAAAT AAATGTGATCTTTCCATTAAAAAATAAAGAA ATTTTGGGGTAAAAAACACAATATATTGTATT CTTGAAAAATCTAAGAGAGTGGATGTGAAGTG TTCTCACCACAAAAGTGATAACTAATTGAGGTA ATGCACATATTAATTAGAAAGATTTGTCAATCC ACAATGTATATATACTTAAAAATATGTTATACAC AATAAATACATACATTAAAAAATAAGTAAATGT A	10 20 30
--	--	-------------------------------

【表 0 0 0 3 - 6】

3UTR-012	Col6a1; コラーゲン、VI型、 $\alpha 1$	CCCACCCTGCACGCCGGCACCAAAACCCCTGTCCT CCCACCCTCCCCACTCATCACTAAACAGAGTA AAATGTGATGCCAATTTTCCCGACCAACCTGAT TCGCTAGATTTTAAAGGAAAAGCTTGGAAA GCCAGGACACAACGCTGCTGCTTGTGCA GGGTCTCCGGGGCTCAGCCCTGAGTTGGCATC ACCTGCGCAGGGCCCTCTGGGGCTCAGCCCTG AGCTAGTGTACCTGCACAGGGCCCTCTGAGGC TCAGCCCTGAGCTGGCGTCACCTGTGAGGGCC CTCTGGGGCTCAGCCCTGAGCTGGCCCTCACCTG GGTTCCCCACCCCGGGCTCTCCTGCCCTGCCCT CCTGCCCGCCCTCCCTCCTGCTGCGCAGCTCC TTCCCTAGGCACCTCTGTGCTGCATCCCACCAG CCTGAGCAAAGACGCCCTCTCGGGGCCCTGTGCC GCACTAGCCTCCCTCTCCTCTGTCCCCATAGCT GGTTTTTCCCACCAATCCTCACCTAACAGTTACT TTACAATTAAACTCAAAGCAAGCTTCTCCTCA GCTTGGGGCAGCCATTGGCCCTCTGTCTCGTTTT GGGAAACCAAGGTCAGGAGGCCGTTGCAGACA TAAATCTCGCGACTCGGCCCGTCTCCTGAGG GTCCTGCTGGTGACCGGCCCTGGACCTTGGCCCT ACAGCCCTGGAGGCCGCTGCTGACCAGCACTG ACCCCGACCTCAGAGAGTACTCGCAGGGGCGC TGGCTGCACTCAAGACCCCTCGAGATTAACGGTG CTAACCCCGTCTGCTCCTCCCTCCCGCAGAGAC TGGGGCTGGAAGTGGACATGAGAGCCCTTGG TGCCACAGAGGGCTGTGTCTTACTAGAAACAAC GCAAACCTCTCCTTCTCAGAAATAGTGATGTGT TCGACGTTTTATCAAAGGCCCTTCTATGTTT ATGTTAGTTTTGCTCCTTCTGTGTTTTTTCTGA ACCATATCCATGTTGCTGACTTTTCCAAATAAA GGTTTTCACTCCTCTC	16
3UTR-013	Calr; カルレディキュリン	AGAGGCCTGCCTCCAGGGCTGGACTGAGGCCT GAGCGCTCCTGCCGACAGAGCTGGCCGCGCCAA ATAATGTCTCTGTGAGACTCGAGAACTTTCATT TTTTCCAGGCTGGTTCGATTTGGGGTGGATT TTGGTTTTGTCCCTCCTCCACTCTCCCCACC CCCTCCCCGCCCTTTTTTTTTTTTTTTAAAC TGGTATTTATCTTTGATTCTCCTTCAGCCCTCA CCCCTGGTTCTCATCTTTCTTGATCAACATCTTT TCTTGCTCTGTCCCTTCTCTCATCTCTTAGCT CCCCTCCAACCTGGGGGGCAGTGGTGTGGAGA AGCCACAGGCCTGAGATTTCTATCTGCTCTCCTT CCTGGAGCCCAGAGGAGGGCAGCAGAAGGGGG TGGTGTCTCCAACCCCCAGCACTGAGGAAGAA CGGGGCTCTTCTCATTTACCCCTCCCTTTCTCC CCTGCCCCAGGACTGGGCCACTTCTGGGTGG GGCAGTGGTCCCAGATTGGCTCACACTGAGAA TGTAAGAACTACAAACAAAATTTCTATTAATTA AATTTGTGTCTCC	17
3UTR-	Col1a1; コラー	CTCCCTCCATCCCAACCTGGCTCCCTCCCACCC	18

10

20

30

【表 0 0 0 3 - 7】

014	ゲン、I型、α1	AACCCTTTTCCCCCAACCCGGAACAGACAA GCAACCCAACTGAACCCCTCAAAAGCCAAAA AATGGGAGACAATTTACATGGACTTTGAAAA TATTTTTTCTTTTGCATTCTCTCAAACTTA GTTTTATCTTTGACCAACCGAACATGACCAAA AACC AAAAGTGCAATTCAACCTTACCAAAAAAA AAAAAAAAAAGAATAAAATAAATAACTTTTAA AAAAGGAAGCTTGGTCCACTTGCTTGAAGACCC ATGCGGGGGTAAGTCCCTTTCTGCCCCTTGGGC TTATGAAACCCCAATGCTGCCCTTTCTGCTCCTT TCTCCACACCCCTTGGGGCTCCCTCCACT CCTTCCCAATCTGTCTCCCAAGACACAGG AAACAATGTATTGTCTGCCAGCAATCAAAGGC AATGCTCAAACACCCCAAGTGGCCCCACCTCA GCCCCGCTCCTGCCGCCCAGCACCCCAAGGCC TGGGGGACCTGGGGTTCTCAGACTGCCAAAGA AGCCTTGCCATCTGGCGCTCCCATGGCTCTTGC AACATCTCCCTTTCGTTTTTGAAGGGGTCTATGC CGGGGGAGCCACCAGCCCTCACTGGGTTCGG AGGAGAGTCAGGAAGGGCCACGACAAAGCAGA AACATCGGATTGGGGAAACGCGTGTCAATCCCT TGTGCCGAGGGCTGGCGGGAGAGACTGTTCT TGTTCTTGTGTAAGTGTGTGCTGAAAGACTA CCTCGTTCTTGTCTGATGTGTACCGGGGCAA CTGCCTGGGGGCGGGGATGGGGGCAGGTGGA AGCGGCTCCCATTTTATACCAAGGTGCTACA TCTATGTGATGGGTGGGTGGGAGGGAATCA CTGGTGCTATAGAAATTGAGATGCCCCCCCAGG CCAGCAAATGTTCTTTTGTTCAAAGTCTATTT TTATTCCTTGATATTTTCTTTTTTTTTTTTTT TTTGTGATGGGGACTTGTGAATTTTCTAAAG GTGCTATTTAACATGGGAGGAGCGTGTGCG GCTCCAGCCAGCCCGCTGCTCACTTTCCACCC TCTCTCCACCTGCCTCTGGCTTCTCAGGCCTCT GCTCTCCGACCTCTCTCCTCTGAAACCCCTCCTC CACAGCTGCAGCCCATCCTCCCGGCTCCCTCCT AGTCTGTCCTGCGTCTCTGTCCCGGGTTTCA GAGACAACTTCCCAAAGCAGAAAGCAGTTTTTC CCCTAGGGGTGGGAGGAAGCAAAAGACTCTG TACCTATTTTGTATGTGATAATAATTTGAGATG TTTTTAATTATTTTGATTGCTGGAATAAAGCATG TGGAATGACCCAAACATAATCCGCACTGGCCT CCTAATTTCTTTTGGAGTTGGGGGAGGGGT AGACATGGGGAAGGGCTTTGGGTGATGGGC TTGCCTTCCATTCTGCCCTTTCCCTCCCCACTA TTCTCTTAGATCCCTCCATAACCCCACTCCCC TTTCTCTACCCCTTCTATACCGCAAACCTTTCT ACTTCCTCTTTCATTTTCTATTCTTGCAATTTCC TTGCACCTTTTCCAAATCCTCTCTCCCTGCAA TACCATACAGGCAATCCACGTGCACAACACACA CACACACTCTTACATCTGGGGTTGTCAAACC
-----	----------	--

10

20

30

【表 0 0 0 3 - 8】

		TCATACCCACTCCCCTTCAAGCCCATCCACTCT CCACCCCTGGATGCCCTGCACTTGGTGGCGGT GGGATGCTCATGGATACTGGGAGGGTGAGGGG AGTGGAACCCGTGAGGAGGACCTGGGGGCCTC TCCTTGAAGTACATGAAGGTCATCTGGCCTC TGCTCCCTTCTACCCACGCTGACCTCCTGCCG AAGGAGCAACGCAACAGGAGAGGGGTCTGCTG AGCCTGGCGAGGGTCTGGGAGGGACCAGGAGG AAGGCGTGCTCCCTGCTCGCTGTCTGGCCCTG GGGAGTGAGGGAGACAGACACCTGGGAGAGC TGTGGGGAAGGCACTCGCACCTGCTCTTGGG AAGGAAGGAGACCTGGCCCTGCTCACCACGGA CTGGGTGCCTCGACCTCCTGAATCCCCAGAACA CAACCCCTGGGCTGGGGTGGTCTGGGGAAC CATCGTGCCCCCGCCTCCCGCCTACTCCTTTTT AAGCTT	
3UTR- 015	Plod1;プロコラ ーゲン-リジン、 2-オキシグルタ ル酸5-ジオキシ ゲナーゼ1	TTGGCCAGGCCTGACCCTCTTGGACCTTCTTC TTTGCCGACAACCACTGCCAGCAGCCTCTGGG ACCTCGGGGTCCCAGGGAACCCAGTCCAGCCTC CTGGCTGTTGACTTCCCATTGCTCTTGGAGCCA CCAATCAAAGAGATTCAAAGAGATTCTGCAGG CCAGAGGCGGAACACACCTTTATGGCTGGGGCT CTCCGTGGTGTCTGGACCCAGCCCTGGAGAC ACCATTCACTTTTACTGCTTTGTAGTGACTCGTG CTCTCCAACCTGTCTTCTGAAAAACCAAGGCC CCCTTCCCCACCTCTTCCATGGGGTGAGACTT GAGCAGAACAGGGGCTTCCCAAGTTGCCAG AAAAGACTGTCTGGGTGAGAACCCATGGCCAGA GCTTCTCCAGGCACAGGTGTTGCACAGGGAG TTCTGCTTCAAGTTTTGGGGTAAAGACACCTGG ATCAGACTCCAAGGGCTGCCCTGAGTCTGGGAC TTCTGCCTCCATGGCTGGTCATGAGAGCAAACC GTAGTCCCCTGGAGACAGCGACTCCAGAGAACC TCTTGGGAGACAGAAGAGGCATCTGTGCACAGC TCGATCTTCTACTTGCCTGTGGGGAGGGGAGTG ACAGGTCCACACACCACTGGGTCAACCTGTC CTGGATGCCTCTGAAGAGAGGGACAGACCGTC AGAAACTGGAGAGTTTCTATTAAAGGTCATTTA AACCA	19
3UTR- 016	Nucb1;ヌクレオ バインディン1	TCCTCCGGGACCCAGCCCTCAGGATTCCGTGAT GCTCCAAGGCGACTGATGGGCGCTGGATGAAG TGGCACAGTCAGCTTCCCTGGGGGCTGGTGTCA TGTTGGGCTCCTGGGGCGGGGACGGCCTGG CATTTCACGCATTGCTGCCACCCAGGTCCACC TGCTCCACTTTCACAGCCTCCAAGTCTGTGCG TCTTCCCTTCTGTCTCCGAGGGGCTTGCCTTC TCTCGTGTCCAGTGAGGTGCTCAGTGATCGGCT TAACTTAGAGAAAGCCCGCCCTCCCTTCTCC GTCTGTCCAAGAGGGTCTGCTCTGAGCCTGCG TTCTAGGTGGCTCGGCCTCAGCTGCCTGGGTT GTGGCCGCCCTAGCATCCTGTATGCCACAGCT	20

10

20

30

【表 0 0 0 3 - 9】

		ACTGGAATCCCCGCTGCTGCTCCGGGCCAAGCT TCTGGTTGATTAATGAGGGCATGGGGTGGTCCC TCAAGACCTTCCCCTACCTTTTGTGGAACCACT GATGCCTCAAAGACAGTGTCCCCTCCACAGCTG GGTGGCAGGGGCAGGGGATCCTCAGTATAGCC GGTGAACCCTGATACCAGGAGCCTGGGCCTCCC TGAACCCCTGGCTTCCAGCCATCTCATCGCCAG CCTCCTCCTGGACCTCTTGGCCCCCAGCCCCCT CCCCACACAGCCCCAGAAGGGTCCAGAGCTG ACCCCACTCCAGGACCTAGGCCAGCCCCCTCAG CCTCATCTGGAGCCCCTGAAGACCAGTCCCACC CACCTTTCTGGCCTCATCTGACACTGCTCCGCA TCCTGCTGTGTGCTGCTTCCATGTTCCGGTTC CATCCAAATACACTTTCTGGAACAAA	
3UTR- 017	α-グロビン	GCTGGAGCCTCGGTGGCCATGCTTCTTGCCCCCT TGGGCCTCCCCCAGCCCCCTCCTCCCCTTCTG CACCCGTACCCCGGTGGTCTTTGAATAAAGTCT GAGTGGGCGGC	21

10

【0 2 5 4】

先の表に列記されるものは例であり、任意の遺伝子由来の任意の U T R が一次構築物のそれぞれの第 1 または第 2 の隣接領域に組み込まれ得ることを理解されたい。さらに、任意の既知の遺伝子の複数の野生型 U T R が利用され得る。野生型遺伝子の変異形ではない人工 U T R を提供することも本発明の範囲内である。これらの U T R もしくはその部分は、それらが選択され得る転写物の U T R もしくはその部分と同一の配向で配置され得るか、または配向もしくは位置を変更し得る。したがって、5' または 3' U T R は、反転し、短縮され、延長され、1 つ以上の他の 5' U T R または 3' U T R でキメラにされ得る。本明細書で使用する「変更される」という用語は、U T R 配列に関与するとき、U T R が参照配列との関連である点において変化したことを意味する。例えば、3' または 5' U T R は、上で教示される配向もしくは位置の変化によって野生型または天然 U T R に対して変更され得るか、またはさらなるヌクレオチドの包含、ヌクレオチドの欠失、ヌクレオチドの交換もしくは転置によって変更され得る。「変更された」U T R (3' または 5' にかかわらず) をもたらすこれらの変化のうちのいずれかは、変異形 U T R を含む。

20

30

【0 2 5 5】

一実施形態において、5' または 3' U T R 等の二重、三重、または四重 U T R が用いられ得る。本明細書で使用するとき、「二重」U T R は、同一の U T R の 2 つのコピーが連続して、または実質的に連続してのいずれかでコードされるものである。例えば、内容が参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国特許公開第 2 0 1 0 0 1 2 9 8 7 7 号に記載の二重 β-グロビン 3' U T R が用いられ得る。

【0 2 5 6】

パターン化された U T R を有することも本発明の範囲内である。本明細書で使用するとき、「パターン化された U T R」は、1 回、2 回、または 3 回以上繰り返された繰り返しまたは交互のパターン、例えば、A B A B A B もしくは A A B B A A B B A A B B もしくは A B C A B C A B C またはその変異形を示す U T R である。これらのパターンにおいて、各文字、A、B、または C は、ヌクレオチドレベルでの異なる U T R を表す。

40

【0 2 5 7】

一実施形態において、隣接領域は、そのタンパク質が共通の機能、構造、特性特徴を共有する転写物のファミリーから選択される。例えば、目的とする腫瘍学関連ポリペプチドは、特定の細胞、組織で発現するか、または発生中のある時点で発現するタンパク質のファミリーに属し得る。これらの遺伝子のうちのいずれの U T R も、同一または異なるタンパク質ファミリーの任意の他の U T R と交換されて、新たなキメラ一次転写物を作成し得

50

る。本明細書で使用する時、「タンパク質のファミリー」は、最も広い意味において、少なくとも1つの機能、構造、特徴、局在化、起源、または発現パターンを共有する2個以上の目的とする腫瘍学関連ポリペプチドの群を指すために用いられる。

【0258】

最適化後（所望の場合）、シグナルセンサー一次構築物成分は、プラスミド、ウイルス、コスミド、および人工染色体等であるが、これらに限定されないベクターに再構築および変換され得る。例えば、最適化された構築物は、化学的にコンピテントな大腸菌、酵母、アカパンカビ、トウモロコシ、ショウジョウバエ等に再構築および変換され得、高コピー数のプラスミド様または染色体構造は、本明細書に記載の方法によって生じる。

【0259】

終止コドン

一実施形態において、本発明のシグナルセンサー一次構築物は、3'非翻訳領域（UTR）の前に少なくとも2つの終止コドンを含み得る。終止コドンは、TGA、TAA、およびTAGから選択され得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサー一次構築物は、終止コドンTGAおよびもう1つの終止コドンを含む。さらなる実施形態において、もう1つの終止コドンは、TAAであり得る。

【0260】

ベクター増幅

シグナルセンサー一次構築物を含有するベクターは、その後、増幅され、Invitrogen PURELINK（商標）HiPure Maxiprepキット（Carlsbad, CA）を用いたマキシプレップ等であるが、これらに限定されない当技術分野で既知の方法を用いてプラスミドが単離および精製される。

【0261】

プラスミド線形化

プラスミドは、その後、制限酵素および緩衝液の使用等であるが、これらに限定されない当技術分野で既知の方法を用いて線形化され得る。線形化反応物は、例えば、InvitrogenのPURELINK（商標）PCR Microキット（Carlsbad, CA）、ならびに強アニオン交換HPLC、弱アニオン交換HPLC、逆相HPLC（RP-HPLC）、および疎水性相互作用HPLC（HIC-HPLC）等であるが、これらに限定されないHPLCに基づく精製方法、ならびにInvitrogenの標準PURELINK（商標）PCRキット（Carlsbad, CA）を含む方法を用いて精製され得る。精製方法は、もたらされた線形化反応物の大きさに応じて修正され得る。その後、線形化されたプラスミドを用いて、インビトロ転写（IVT）反応のためのcDNAを生成する。

【0262】

cDNA鋳型合成

cDNA鋳型は、線形化されたプラスミドにポリメラーゼ連鎖反応（PCR）を経させることによって合成され得る。表4は、本発明のPCR反応において有用であり得るプライマーおよびプローブの一覧である。この一覧が網羅的ではなく、任意の増幅のためのプライマー-プローブ設計が当技術分野の技術の範囲内であることを理解されたい。プローブは、標的分子に対する塩基対合忠実性および塩基対合強度を高めるように化学的に修飾された塩基も含有し得る。そのような修飾には、5-メチル-シチジン、2、6-ジ-アミノプリン、2'-フルオロ、ホスホロチオエート、またはロックド核酸が含まれ得る。

表4. プライマーおよびプローブ

10

20

30

40

【表 0004】

プライマー ／プロロー ブ識別名	配列(5'→3')	ハイブリダイゼー ション標的	配列番 号
UFP	TTGGACCCCTCGTACAGAAGCTAA TACG	cDNA鋳型	22
URP	T _{x160} CTTCCTACTCAGGCTTTATT CAAAGACCA	cDNA鋳型	23
GBA1	CCTTGACCTTCTGGAACCTC	酸性グルコセレブ ロシダーゼ	24
GBA2	CCAAGCACTGAAACGGATAT	酸性グルコセレブ ロシダーゼ	25
LUC1	GATGAAAAGTGCTCCAAGGA	ルシフェラーゼ	26
LUC2	AACCGTGATGAAAAGGTACC	ルシフェラーゼ	27
LUC3	TCATGCAGATTGGAAAAGGTC	ルシフェラーゼ	28
GCSF1	CTTCTTGGACTGTCCAGAGG	G-CSF	29
GCSF2	GCAGTCCCTGATACAAGAAC	G-CSF	30
GCSF3	GATTGAAGGTGGCTCGCTAC	G-CSF	31

10

【0263】

＊UFPはユニバーサル順方向プライマーであり、URPはユニバーサル逆方向プライマーである。

【0264】

一実施形態において、cDNAは、転写を経る前に配列決定分析のために提出され得る。

20

【0265】

シグナルセンサーポリヌクレオチド生産（シグナルセンサーmRNA）

シグナルセンサーポリヌクレオチド生産のプロセスは、インビトロ転写、cDNA鋳型除去およびRNA浄化、ならびにキャッピングおよび／またはテリング反応を含み得るが、これらに限定されない。

【0266】

インビトロ転写

先のステップで生産されたcDNAは、インビトロ転写（IVT）系を用いて転写され得る。この系は、典型的には、転写緩衝液、ヌクレオチドトリホスフェート（NTP）、RNase阻害剤、およびポリメラーゼを含む。NTPは、自家で製造され得るか、供給業者から選択され得るか、または本明細書に記載されるように合成され得る。NTPは、天然および非天然（修飾された）NTPを含む本明細書に記載のNTPから選択され得るが、これらに限定されない。ポリメラーゼは、T7 RNAポリメラーゼ、T3 RNAポリメラーゼ、および修飾された核酸に組み込まれることができるポリメラーゼ等であるが、これらに限定されない変異体ポリメラーゼから選択され得るが、これらに限定されない。

30

【0267】

RNAポリメラーゼ

任意の数のRNAポリメラーゼまたは変異形が本発明のシグナルセンサー一次構築物の設計において用いられ得る。

40

【0268】

RNAポリメラーゼは、RNAポリメラーゼ配列のアミノ酸を挿入するか、または欠失させることによって修飾され得る。非限定的な例として、RNAポリメラーゼは、未修飾RNAポリメラーゼと比較して、2'－修飾ヌクレオチドトリホスフェートを組み込む能力の向上を示すように修飾され得る（参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる、国際公開第WO2008078180号および米国特許第8,101,385号を参照のこと）。

【0269】

50

変異形は、RNAポリメラーゼを進化させ、RNAポリメラーゼアミノ酸および／または核酸配列を最適化し、かつ／または当技術分野で既知の他の方法を用いることによって得られ得る。非限定的な例として、T7 RNAポリメラーゼ変異形は、E s v e l t ら（参照により全体が本明細書に組み込まれる、Nature（2011）472（7344）：499－503）によって立案された連続指向進化システムを用いて進化させられ得、T7 RNAポリメラーゼのクローンは、93位のリジンがトレオニンで置換された変異（K93T）、I4M、A7T、E63V、V64D、A65E、D66Y、T76N、C125R、S128R、A136T、N165S、G175R、H176L、Y178H、F182L、L196F、G198V、D208Y、E222K、S228A、Q239R、T243N、G259D、M267I、G280C、H300R、D351A、A354S、E356D、L360P、A383V、Y385C、D388Y、S397R、M401T、N410S、K450R、P451T、G452V、E484A、H523L、H524N、G542V、E565K、K577E、K577M、N601S、S684Y、L699I、K713E、N748D、Q754R、E775K、A827V、D851N、またはL864F等であるが、これらに限定されない少なくとも1つの変異をコードし得る。別の非限定的な例として、T7 RNAポリメラーゼ変異形は、参照により全体が本明細書に組み込まれる、米国特許公開第20100120024号および同第20070117112号に記載の少なくとも1つの変異をコードし得る。RNAポリメラーゼの変異形には、置換変異形、保存アミノ酸置換、挿入変異形、欠失変異形、および／または共有結合誘導体も含まれ得るが、これらに限定されない。

10

20

【0270】

一実施形態において、シグナルセンサー一次構築物は、野生型または変異形RNAポリメラーゼによって認識されるように設計され得る。そうすることで、シグナルセンサー一次構築物は、野生型または親一次構築物由来の配列変化部位または領域を含有するように修飾され得る。

【0271】

一実施形態において、シグナルセンサー一次構築物は、5'UTR内、5'UTRの前、および／または5'UTRの後に、少なくとも1つの置換および／または挿入を、シグナルセンサー一次構築物のRNAポリメラーゼ結合または認識部位の上流、RNAポリメラーゼ結合または認識部位の下流、TATAボックス配列の上流、TATAボックス配列の下流であるが、一次構築物のコーディング領域の上流に含むように設計され得る。

30

【0272】

一実施形態において、シグナルセンサー一次構築物の5'UTRは、同一の塩基のヌクレオチドの少なくとも1つの領域および／またはストリングの挿入によって置換され得る。ヌクレオチドの領域および／またはストリングは、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、または少なくとも8個のヌクレオチドを含み得るが、これらに限定されず、このヌクレオチドは、天然および／または非天然であり得る。非限定的な例として、このヌクレオチド基は、5～8個のアデニン、シトシン、チミン、本明細書に開示の他のヌクレオチドのうちのいずれかのストリング、および／またはこれらの組み合わせを含み得る。

40

【0273】

一実施形態において、シグナルセンサー一次構築物の5'UTRは、アデニン、シトシン、チミン、本明細書に開示の他のヌクレオチドのうちのいずれか、および／またはこれらの組み合わせ等であるが、これらに限定されない2つの異なる塩基のヌクレオチドの少なくとも2つの領域および／またはストリングの挿入によって置換され得る。例えば、5'UTRは、5～8個のアデニン塩基を挿入し、その後、5～8個のシトシン塩基を挿入することによって置換され得る。別の例において、5'UTRは、5～8個のシトシン塩基を挿入し、その後、5～8個のアデニン塩基を挿入することによって置換され得る。

【0274】

一実施形態において、シグナルセンサー一次構築物は、RNAポリメラーゼによって認

50

識され得る転写開始部位の下流に少なくとも1つの置換および／または挿入を含み得る。非限定的な例として、少なくとも1つの置換および／または挿入は、転写開始部位のすぐ下流（+1～+6等であるが、これらに限定されない）の領域内の少なくとも1個の核酸を置換することによって転写開始部位の下流で生じ得る。転写開始部位のすぐ下流のヌクレオチド領域を変化させることにより、開始速度に影響を及ぼし、見かけ上のヌクレオチドトリホスフェート（NTP）反応一定値を増加させ、かつ初期転写物を硬化させることによる転写複合体からの短い転写物の解離を高め得る（参照により全体が本明細書に組み込まれる、Briebe et al., Biochemistry (2002) 41: 5144-5149）。少なくとも1個の核酸の修飾、置換、および／または挿入は、核酸配列のサイレント変異を引き起こし得るか、またはアミノ酸配列における変異を引き起こし得る。

10

【0275】

一実施形態において、シグナルセンサー一次構築物は、転写開始部位の下流で、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、または少なくとも13個のグアニン塩基の置換を含み得る。

【0276】

一実施形態において、シグナルセンサー一次構築物は、転写開始部位のすぐ下流の領域において、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、または少なくとも6個のグアニン塩基の置換を含み得る。非限定的な例として、その領域内のヌクレオチドがGGGA GAであるとき、グアニン塩基は、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、または少なくとも4個のアデニンヌクレオチドによって置換され得る。別の非限定的な例において、その領域内のヌクレオチドがGGGA GAであるとき、グアニン塩基は、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、または少なくとも4個のシトシン塩基によって置換され得る。別の非限定的な例において、その領域内のヌクレオチドがGGGA GAであるとき、グアニン塩基は、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、もしくは少なくとも4個のチミン、および／または本明細書に記載のヌクレオチドのうちのいずれかによって置換され得る。

20

【0277】

一実施形態において、シグナルセンサー一次構築物は、開始コドンの上流に少なくとも1つの置換および／または挿入を含み得る。明確化のために、当業者は、開始コドンがタンパク質コーディング領域の第1のコドンである一方で、転写開始部位が転写が始まる部位であることを理解する。シグナルセンサー一次構築物は、ヌクレオチド塩基の少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、もしくは少なくとも8つの置換および／または挿入を含み得るが、これらに限定されない。ヌクレオチド塩基は、開始コドンの上流の1つ、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4、もしくは少なくとも5つの位置に挿入または置換され得る。挿入および／または置換されたヌクレオチドは、同一の塩基（例えば、すべてAもしくはすべてCもしくはすべてTもしくはすべてG）、2個の異なる塩基（例えば、AおよびC、AおよびT、もしくはCおよびT）、3個の異なる塩基（例えば、A、C、およびT、もしくはA、C、およびT）、または少なくとも4個の異なる塩基であり得る。非限定的な例として、シグナルセンサー一次構築物内のコーディング領域の上流のグアニン塩基は、アデニン、シトシン、チミン、または本明細書に記載のヌクレオチドのうちのいずれかで置換され得る。別の非限定的な例において、シグナルセンサー一次構築物におけるグアニン塩基の置換は、転写開始部位の下流であり、かつ開始コドンの前の領域に1個のグアニン塩基を残すように設計され得る（参照により全体が本明細書に組み込まれる、Esvelt et al., Nature (2011) 472 (7344): 499-503を参照のこと）。非限定的な例として、少なくとも5個のヌクレオチドは、転写開始部位の下流および開始コドンの上流の1つの位置に挿入され得、少なくとも5個のヌクレオチドは、同一の塩基型であり得る。

30

40

50

【0278】

cDNA 鋳型除去および浄化

cDNA 鋳型は、デオキシリボヌクレアーゼ I (DNase I) での処理等であるが、これに限定されない当技術分野で既知の方法を用いて除去され得る。RNA 浄化は、Beckman Coulter (Danvers, MA) の AGENCOURT (登録商標) CLEANSEQ (登録商標) システム；強アニオン交換 HPLC、弱アニオン交換 HPLC、逆相 HPLC (RP-HPLC)、および疎水性相互作用 HPLC (HIC-HPLC) 等であるが、これらに限定されない HPLC に基づく精製方法等であるが、これらに限定されない精製方法も含み得る。

【0279】

キャッピングおよび／またはテーリング反応

シグナルセンサー一次構築物または mmRNA は、キャッピングおよび／またはテーリング反応も経る。キャッピング反応は、5' キャップをシグナルセンサー一次構築物の 5' 末端に付加する当技術分野で既知の方法を用いて行われ得る。キャッピングのための方法には、ワクシニアキャッピング酵素 (New England Biolabs, Ipswich, MA) の使用が含まれるが、これに限定されない。

【0280】

ポリ A テーリング反応は、2' O-メチルトランスフェラーゼおよび本明細書に記載の方法等であるが、これらに限定されない当技術分野で既知の方法を用いて行われ得る。cDNA から生成されたシグナルセンサー一次構築物がポリ T を含まない場合、シグナルセンサー一次構築物が浄化される前にポリ A テーリング反応を行うことは有益であり得る。

【0281】

精製

シグナルセンサー一次構築物または mmRNA 精製は、mRNA または mmRNA 浄化、品質保証、および品質管理を含み得るが、これらに限定されない。mRNA または mmRNA 浄化は、AGENCOURT (登録商標) ビーズ (Beckman Coulter Genomics, Danvers, MA)；ポリ T ビーズ；LNA (商標) オリゴ T 捕捉プローブ (EXIQON (登録商標) Inc, Vedbaek, Denmark)；または強アニオン交換 HPLC、弱アニオン交換 HPLC、逆相 HPLC (RP-HPLC)、および疎水性相互作用 HPLC (HIC-HPLC) 等であるが、これらに限定されない HPLC に基づく精製方法等であるが、これらに限定されない当技術分野で既知の方法を用いて行われ得る。「精製された mRNA またはシグナルセンサー mmRNA」等の「精製された」という用語は、ポリヌクレオチドとの関連で用いられるとき、少なくとも 1 つの混入物質から分離されるものを指す。本明細書で使用するとき、「混入物質」とは、別の物質を不適切、不純、または劣性にする任意の物質である。したがって、精製されたシグナルセンサーポリヌクレオチド (例えば、DNA および RNA) は、天然に見られる形態もしくは環境とは異なる形態もしくは環境、またはそれを処理もしくは精製方法に供する前に存在した形態もしくは環境とは異なる形態もしくは環境において存在する。

【0282】

品質保証および／または品質管理検査は、ゲル電気泳動、紫外線吸収、または分析的 HPLC 等であるが、これらに限定されない方法を用いて行われ得る。

【0283】

別の実施形態において、シグナルセンサー mRNA または mmRNA は、逆転写 PCR を含むが、これに限定されない方法を用いて配列決定され得る。

【0284】

一実施形態において、シグナルセンサー mRNA または mmRNA は、紫外可視分光法 (UV/Vis) 等であるが、これに限定されない方法を用いて定量化され得る。UV/Vis 分光計の非限定的な例には、NANODROP (登録商標) 分光計 (Thermo Fisher, Waltham, MA) がある。定量化されたシグナルセンサー mRNA

10

20

30

40

50

またはmmRNAは、シグナルセンサーmRNAまたはmmRNAが適切な大きさであり得るかを決定し、シグナルセンサーmRNAまたはmmRNAの分解が生じていないことを確認するために分析され得る。シグナルセンサーmRNAおよび／またはmmRNAの分解は、アガロースゲル電気泳動；強アニオン交換HPLC、弱アニオン交換HPLC、逆相HPLC（RP-HPLC）、および疎水性相互作用HPLC（HIC-HPLC）等であるが、これらに限定されないHPLCに基づく精製方法；液体クロマトグラフィー質量分析（LCMS）；キャピラリー電気泳動（CE）；ならびにキャピラリーゲル電気泳動（CGE）等であるが、これらに限定されない方法を用いて確認され得る。

【0285】

シグナルペプチドまたはタンパク質

10

シグナルセンサー一次構築物またはmmRNAは、ポリペプチドの治療関連部位への輸送を促進するさらなる特徴もコードし得る。タンパク質輸送を支援するそのような特徴の1つに、シグナルペプチド配列がある。本明細書で使用する時、「シグナル配列」または「シグナルペプチド」とは、それぞれ、コーディング領域またはコードされたポリペプチドの5'（またはN末端）に組み込まれる、それぞれ、約9～200ヌクレオチド長（3～60アミノ酸長）のポリヌクレオチドまたはポリペプチドである。これらの配列の付加は、1つ以上の分泌経路を通るコードされた腫瘍学関連ポリペプチドの小胞体への輸送をもたらす。いくつかのシグナルペプチドは、タンパク質が輸送された後にシグナルペプチダーゼによってタンパク質から切断される。

【0286】

20

表5は、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAをコードするために組み込まれ得るシグナルタンパク質またはペプチドの代表的な一覧である。

表5. シグナルペプチド

【表 0 0 0 5 - 1】

識別名	説明	ヌクレオチド配列 (5'→3')	配列 番号	コードされた ペプチド	配列 番号
SS-001	α-1-抗トリ プシン	ATGATGCCATCCTCAGTC TCATGGGGTATTTTGCTCT TGGCGGGTCTGTGCTGTC TCGTGCCGTGTCGCTCG CA	32	MMPSSVSW GILLAGLCC LVPVSLA	94
SS-002	G-CSF	ATGGCCGGACCGGCGACT CAGTCGCCCATGAACTC ATGGCCCTGCAGTTGTTG CTTTGGCACTCAGCCCTC TGGACCGTCCAAGAGGCG	33	MAGPATQSP MKLMALQL LLWHSALW TVQEA	95
SS-003	第IX因子	ATGCAGAGAGTGAACATG ATTATGGCCGAGTCCCA TCGCTCATCACAACTGTC CTGCTTGGTACCTGCTTTC CGCCGAATGCACTGTCTT TCTGGATCACGAGAATGC GAATAAGATCTTGAACCG ACCCAAACGG	34	MQRVNMIM AESPSLITIC LLGYLLSAE CTVFLDHEN ANKILNRPK R	96
SS-004	プロラクチ ン	ATGAAAGGATCATTGCTG TTGCTCCTCGTGTGGAAC CTTCTGCTTTGCCAGTCC GTAGCCCCC	35	MKGSLLLLL VSNLLLCQS VAP	97
SS-005	アルブミン	ATGAAATGGGTGACGTTT ATCTCACTGTTGTTTTGT TCTCGTCCGCCTACTCCA GGGGAGTATTCGCCCGA	36	MKWVTFISL LFLFSSAYS RGVFRR	98
SS-006	HMMSP38	ATGTGGTGGCGGCTCTGG TGGCTGCTCCTGTTGCTC CTCTTGCTGTGGCCCATG GTGTGGGCA	37	MWWRLWW LLLLLLLLP MWA	99
MLS-001	オルニチン カルバモイ ルトランス フェラーゼ	TGCTCTTTAACCTCCGCAT CCTGTTGAATAACGCTGC GTTCCGAAATGGGCATAA CTTCATGTTACGCAACTT CAGATGCGGCCAGCCACT CCAG	38	MLFNLRILL NNAAFRNG HNFMVRFN RCGQPLQ	100
MLS-002	シトクロム Cオキシダ ーゼサブユ ニット8A	ATGTCCGTCTTGACACCC CTGCTCTTGAGAGGGCTG ACGGGGTCCGCTAGACGC CTGCCGTACCGGAGCG AAGATCCACTCCCTG	39	MSVLTPLLL RGLTGSARR LPVPRAKIH SL	101
MLS-003	シトクロム Cオキシダ ーゼサブユ ニット8A	ATGAGCGTGCTCACTCCG TTGCTTCTTCGAGGGCTT ACGGGATCGCTCGGAGG TTGCCGTCCCGAGAGCG AAGATCCATTGCTTG	40	MSVLTPLLL RGLTGSARR LPVPRAKIH SL	102
SS-007	III型、細菌 性	TGACAAAAATAACTTTATC TCCCCAGAATTTTAGAATC	41	MVTKITLSP QNFRIQKQE	103

10

20

30

【表 0 0 0 5 - 2】

		CAAAAACAGGAAACCACA CTACTAAAAGAAAAATCA ACCGAGAAAAATTCTTTA GCAAAAAGTATTCTCGCA GTAAAAATCACTTCATCG AATTAAGGTCAAAATTATC GGAACGTTTATTTCGCAT AAGAACACT		TTLLKEKST EKNSLAKSI LAVKNHFIE LRSKLSERFI SHKNT	
SS-008	ウイルス性	ATGCTGAGCTTGTGGATAC CCGCACCTGCTGCTGCTGG CGGTGACCAGCTGCCTGGC GACCTGCCAG	42	MLSFVDTRT LLLLAVTSC LATCQ	104
SS-009	ウイルス性	ATGGGCAGCAGCCAGGCGC CGCGCATGGGCAGCGTGGG CGGCCATGGCTGATGGCG CTGCTGATGGCGGGCCTGA TTCGCCGGGCATTCTGGCG	43	MGSSQAPR MGSVGGHG LMALLMAG LILPGILA	105
SS-010	ウイルス性	ATGGCGGGCATTCTTTATT TTCTGTTTAGCTTTCTGTT TGGCATTTCGCAT	44	MAGIFYFLF SFLFGICD	106
SS-011	ウイルス性	ATGGAAAACCGCCTGCTG CGCGTGTTTCTGGTGTGG GCGGCGCTGACCATGGAT GGCGCGAGCGCG	45	MENRLLRVF LVWAALTM DGASA	107
SS-012	ウイルス性	ATGGCGCGCCAGGGCTGCT TTGGCAGCTATCAGGTGATT AGCCTGTTTACCTTTGCGAT TGGCGTGAACTGTGCCTG GGC	46	MARQGCFFG SYQVISLFTF AIGVNLCLG	108
SS-013	バシラス属	ATGAGCGCCTGCCGGTGC TGCTGCTGCTGCAGCTGCTG GTGCGCCCGGGCCTGCAG	47	MSRLPVLLL LQLLVRPGL Q	109
SS-014	バシラス属	ATGAAACAGCAGAAACGCC TGATGCGCGCCTGCTGACC CTGCTGTTTGCCTGATTTT TCTGCTGCCCATAGCAGC GCGAGCGCG	48	MKQQKRLY ARLLTLLFA LIFLLPHSSA SA	110
SS-015	分泌シグナル	ATGGCGACGCCGCTGCCT CCGCCCTCCCCGCGGCAC CTGCGGCTGCTGCGGCTG CTGCTCTCCGCCCTCGTC CTCGGC	49	MATPLPPPS PRHLRLLRL LLSG	111
SS-016	分泌シグナル	ATGAAGGCTCCGGGTGCG CTCGTGCTCATCATCCTGT GCTCCGTGCTCTTCTCT	50	MKAPGRLVL IILCSVVF	112
SS-017	分泌シグナル	ATGCTTCAGCTTTGAAA CTTGTTCTCCTGTGCGGC GTGCTCACT	51	MLQLWKLL CGVLT	113
SS-018	分泌シグナル	ATGCTTTATCTCCAGGGTT GGAGCATGCCTGCTGTGG CA	52	MLYLQGWS MPAVA	114

10

20

30

【表 0 0 0 5 - 3】

SS-019	分泌シグナル	ATGGATAACGTGCAGCCG AAAATAAAACATCGCCCC TTCTGCTTCAGTGTGAAA GGCCACGTGAAGATGCTG CGGCTGGATATTATCAAC TCACTGGTAACAACAGTA TTCATGCTCATCGTATCTG TGTTGGCACTGATACCA	53	MDNVQPKIK HRPFCFSVK GHVKMLRL DIINSLVTTV FMLIVSVLA LIP	115
SS-020	分泌シグナル	ATGCCCTGCCTAGACCAA CAGCTCACTGTTTCATGCC CTACCCTGCCCTGCCAG CCCTCCTCTCTGGCCTTCT GCCAAGTGGGTTCTTAA CAGCA	54	MPCLDQQLT VHALPCPAQ PSSLAFQV GFLTA	116
SS-021	分泌シグナル	ATGAAAACCTTGTTCAATC CAGCCCCTGCCATTGCTG ACCTGGATCCCCAGTTCT ACACCCTCTCAGATGTGT TCTGCTGCAATGAAAGTG AGGCTGAGATTTTAACTG GCCTCACGTGGGCAGCG CTGCAGATGCT	55	MKTLFNPAP AIADLDPQF YTLSDVFCC NESEAEILT GLTVGSAAD A	117
SS-022	分泌シグナル	ATGAAGCCTCTCCTTGTT GTGTTTGCTTTCTTTTCC TTTGGGATCCAGTGTGG CA	56	MKPLLVVVF FLFLWDPVL A	118
SS-023	分泌シグナル	ATGTCCTGTTCCCTAAAGT TACTTTGATTGTAATTTT TTTTTACTGTTGGCTTTCA TCCAGC	57	MSCSLKFTL IVIFFTCTLS SS	119
SS-024	分泌シグナル	ATGGTTCTTACTAAACCTC TTCAAAGAAATGGCAGCA TGATGAGCTTTGAAAATG TGAAAGAAAAGAGCAGAG AAGGAGGGCCCCATGCAC ACACACCCGAAGAAGAT TGTGTTTCGTGGTAACAC ACTACCCTCAGGTTCAGA CCACACTCAACCTGTTTTT CCATATATTCAAGTTCTT ACTCAACCACTTCCCTTC TGTGGGGT	58	MVLTKPLQR NGSMMSFE NVKEKSREG GPHAHTPEE ELCFVVTHT PQVQTTLNL FFHIFKVL QPLSLWLG	120
SS-025	分泌シグナル	ATGGCCACCCGCCATTC CGGCTGATAAGGAAGATG TTTTCCTTCAAGGTGAGC AGATGGATGGGCTTGCC TGCTTCCGTCCTTGCG GCATCC	59	MATPPFRLI RKMFSFKVS RWMGLACF RSLAAS	121
SS-026	分泌シグナル	ATGAGCTTTTCCAACTCC TGATGAAAAGGAAGAAC	60	MSFFQLLM KRKELIPLV	122

10

20

30

【表 0 0 0 5 - 4】

		TCATTCCCTTGGTGGTGTTCATGACTGTGGCGGCGGGTGGAGCCTCATCT		VFMTVAAG GASS	
SS-027	分泌シグナル	ATGGTCTCAGCTCTGCGGGGAGCACCCCTGATCAGGTGCACTCAAGCCCTGTTTCTTCTCCTTCTGTGAGTGACACGGAGGCTGGTGA GCTGCCTGTCATCCCAA GCTCAGCTCTGAGC	61	MVSALRGAP LIRVHSSPVS SPSVSGPAA LVSLSSQS SALS	123
SS-028	分泌シグナル	ATGATGGGGTCCCCAGTGA GTCATCTGCTGGCCGGC TTCTGTGTGTGGTCTGCTC TTGGGC	62	MMGSPVSH LLAGFCVWV VLG	124
SS-029	分泌シグナル	ATGGCAAGCATGGCTGCC GTGCTCACCTGGGCTCTG GCTCTTCTTTTACGCGTTT CGGCCACCCAGGCA	63	MASMAAVL TWALALLSA FSATQA	125
SS-030	分泌シグナル	ATGGTGCTCATGTGGACC AGTGGTGACGCTTCAAG ACGGCCTACTTCTGCTG AAGGGTGCCCTCTGCAG TTCTCCGTGTGCGGCTG CTGCAGGTGCTGGTGGAC CTGGCCATCCTGGGGCAG GCTACGCC	64	MVLMWTS DAFKTAYFL LKGAPLQFS VCGLLQVLV DLAILGQAT A	126
SS-031	分泌シグナル	ATGGATTTTGTGCTGGA GCCATCGAGGCGTCTGC GGTGTGCTGTGGGCTAC CCCTGGACACGGTGAAG GTCAGGATCCAGACGGAG CCAAAGTACACAGGCATC TGGCACTGCGTCCGGGAT ACGTATCACCGAGAGCGC GTGTGGGGCTTCTACCGG GGCCTCTCGCTGCCCGTG TGCACGGTGTCCCTGGTA TCTTCC	65	MDFVAGAIG GVCVAVGY PLDVTVKVRI QTEPLYTGI WHCVRDITY HRERVWGF YRGLSLPVC TVSLVSS	127
SS-032	分泌シグナル	ATGGAGAAGCCCTCTTC CCATTAGTGCCTTTGCATT GGTTTGGCTTTGGCTACA CAGCACTGCTTGTCTTG GTGGGATCGTTGGCTATG TAAAAACAGGCAGCGTGC CGTCCCTGGCTGCAGGCG TGCTCTTGGCAGTCTAG CC	66	MEKPLFPLV PLHWFQFG YALVVS IVGYVKTGS VPSLAAGLL FGSLA	128
SS-033	分泌シグナル	ATGGGTCTGCTCCTTCCC CTGGCACTCTGCATCCTA GTCTGTGC	67	MGLLLPLAL CILVLC	129

10

20

30

【表 0 0 0 5 - 5】

SS-034	分泌シグナル	ATGGGGATCCAGACGAGC CCCGTCCTGCTGGCCTCC CTGGGGGTGGGGCTGGTC ACTCTGCTCGGCCTGGCT GTGGGC	68	MGIQTSPVL LASLGVGLV TLLGLAVG	130
SS-035	分泌シグナル	ATGTCCGACCTGCTACTA CTGGGCCTGATTGGGGGC CTGACTCTCTTACTGCTGC TGACGCTGCTAGCCTTTG CC	69	MSDLLLLGL IGGLTLLLLL TLLAFA	131
SS-036	分泌シグナル	ATGGAGACTGTGGTGATT GTTGCCATAGGTGTGCTG GCCACCATGTTTCTGGCT TCGTTTGCAGCCTTGGTG CTGGTTTGCAGGCAG	70	METVVIVAI GVLATIFLAS FAALVLVCR Q	132
SS-037	分泌シグナル	ATGCGCGGCTCTGTGGAG TGCACCTGGGGTTGGGGG CACTGTGCCCCAGCCCC CTGCTCCTTTGACTCTAC TTCTGTTTGCAGCCCCATT TGGCCTGCTGGGG	71	MAGSVECT WGWGHCAP SPLLLWTLL LFAAPFGLL G	133
SS-038	分泌シグナル	ATGATGCCGTCCCGTACC AACCTGGCTACTGGAATC CCCAGTAGTAAAGTGAAA TATTCAAGGCTCTCCAGC ACAGACGATGGCTACATT GACCTTCAGTTTAAAGAAA ACCCCTCCTAAGATCCCTT ATAAGGCCATCGCACTTG CCAAGTGCTGTTTGTGAT TGCGGCC	72	MMPSTRNL ATGIPSSKV KYSRLSSTD DGYIDLQFK KTPPKIPYK AIALATVLF IGA	134
SS-039	分泌シグナル	ATGGCCCTGCCCCAGATG TGTGACGGGAGCCACTTG GCCTCCACCCTCCGCTAT TGCATGACAGTCAGCGGC ACAGTGGTTCTGGTGGCC GGGACGCTCTGCTTCGCT	73	MALPQMCD GSHLASTLR YCMTVSGTV VLVAGTLCF A	135
SS-041	Vrg-6	TGAAAAAGTGGTTCGTTG CTGCCGGCATCGGCGCTG CCGGACTCATGCTCTCCA GCGCCGCCA	74	MKKWFVAA GIGAGLLML SSAA	136
SS-042	PhoA	ATGAAACAGAGCACCATTG CGCTGGCGCTGCTGCCGCT GCTGTTTACCCGGTGACCA AAGCG	75	MKQSTIALA LLPLLFTPV TKA	137
SS-043	OmpA	ATGAAAAAACCGCGATTG CGATTGCGGTGGCGCTGGC GGGCTTTGCGACCGTGGCG CAGGCG	76	MKKTAlAIA VALAGFATV AQA	138
SS-044	STI	ATGAAAAAACTGATGCTGG CGATTTTTTTAGCGTGCTG	77	MKKLMLAIF FSVLSFPSFS	139

10

20

30

【表 0 0 0 5 - 6】

		AGCTTCCGAGCTTTAGCCA GAGC		QS	
SS- 045	STII	ATGAAAAAAAAACATTGCGT TTCTGCTGGCGAGCATGTTT GTGTTTAGCATTGCGACCA ACGCGTATGCG	78	MKKNIAFL ASMFVFSIA TNAYA	140
SS- 046	アミラーゼ	ATGTTTGCGAAACGCTTTAA AACCAGCCTGCTGCCGCTG TTTGCGGGCTTTCTGCTGCT GTTTCATCTGGTGCTGGCGG GCCCGCGCGCGCGAGC	79	MFAKRFKTS LLPLFAGFL LLFHLVLAC PAAAS	141
SS- 047	α因子	ATGCGCTTTCCGAGCATTTT TACCGCGGTGCTGTTGCGG CGAGCAGCGCGCTGGCG	80	MRFPSIFTA VLFAASSAL A	142
SS- 048	α因子	ATGCGCTTTCCGAGCATTTT TACCACCGTGCTGTTGCGG CGAGCAGCGCGCTGGCG	81	MRFPSIFTT VLFAASSAL A	143
SS- 049	α因子	ATGCGCTTTCCGAGCATTTT TACCAGCGTGCTGTTGCGG CGAGCAGCGCGCTGGCG	82	MRFPSIFTS VLFAASSAL A	144
SS- 050	α因子	ATGCGCTTTCCGAGCATTTT TACCATGTGCTGTTGCGG CGAGCAGCGCGCTGGCG	83	MRFPSIFTH VLFAASSAL A	145
SS- 051	α因子	ATGCGCTTTCCGAGCATTTT TACCATGTGCTGTTGCGG CGAGCAGCGCGCTGGCG	84	MRFPSIFTIV LFAASSALA	146
SS- 052	α因子	ATGCGCTTTCCGAGCATTTT TACCTTTGTGCTGTTGCGG CGAGCAGCGCGCTGGCG	85	MRFPSIFTF VLFAASSAL A	147
SS- 053	α因子	ATGCGCTTTCCGAGCATTTT TACCGAAGTGCTGTTGCG GCGAGCAGCGCGCTGGCG	86	MRFPSIFTE VLFAASSAL A	148
SS- 054	α因子	ATGCGCTTTCCGAGCATTTT TACCGCGTGCTGTTGCGG CGAGCAGCGCGCTGGCG	87	MRFPSIFTG VLFAASSAL A	149
SS- 055	エンドグル カナーゼV	ATGCGTTCCCTCCCCCTC CTCCGCTCCGCCGTGTG GCCGCCCTGCCGGTGTG GCCCTTGCC	88	MRSSPLLRS AVVAALPVL ALA	150
SS- 056	分泌シグナ ル	ATGGGCGCGCGGCCGTG CGCTGGCACTTGTGCGTG CTGCTGGCCCTGGGCACA CGCGGGCGGCTG	89	MGAAAVRW HLCVLLALG TRGRL	151
SS- 057	真菌性	ATGAGGAGCTCCCTTGTG CTGTTCTTTGTCTCTGCGT GGACGGCCTTGCCAG	90	MRSSLVLFF VSAWTALA	152
SS- 058	フィブロネ クチン	ATGCTCAGGGGTCCGGGA CCCGGGCGGCTGCTGCTG CTAGCAGTCCTGTGCCTG GGGACATCGGTGCGCTGC ACCGAAACCGGAAGAGC	91	MLRGPGPG RLLLLAVLC LGTSVRCTE TGKSKR	153

【表 0 0 0 5 - 7】

		AAGAGG			
SS- 059	フィブロネ クチン	ATGCTTAGGGGTCCGGGG CCCGGGCTGCTGCTGCTG GCCGTCCAGCTGGGGACA GCGGTGCCCTCCACG	92	MLRGPGPGL LLLAQCLG TAVPSTGA	154
SS- 060	フィブロネ クチン	ATGCGCCGGGGGGCCCTG ACCGGGCTGCTCCTGCTC CTGTGCCTGAGTGTTGTG CTACGTGCAGCCCCCTCT GCAACAAGCAAGAAGCGC AGG	93	MRRGALTGL LLVLCCLSVV LRAAPSATS KKRR	155

10

20

30

40

50

【0287】

この表において、SSは分泌シグナルであり、MLSはミトコンドリアリーダーシグナルである。本発明のシグナルセンサー一次構築物またはmmRNAは、配列番号94～155のシグナルペプチド配列のうちのいずれか、またはその断片もしくは変異形をコードするように設計され得る。これらの配列は、腫瘍学関連ポリペプチドコーディング領域の最初、中間、もしくは最後に含まれ得るか、またはあるいは隣接領域に含まれ得る。さらに、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド一次構築物のうちのいずれかは、配列番号32～93によって定義される配列のうちの1つ以上も含み得る。これらは、第1の領域またはいずれかの隣接領域に存在し得る。

【0288】

本発明において利用され得るさらなるシグナルペプチド配列は、例えば、<http://www.signalpeptide.de/>または<http://proline.bic.nus.edu.sg/spdb/>で見出されるデータベース等のデータベースに教示されるシグナル配列を含む。米国特許第8,124,379号、同第7,413,875号、および同第7,385,034号に記載のものも本発明の範囲内であり、これら各々の内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【0289】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAは、核局在化シグナル(NLS)および/または核外移行シグナル(NES)をコードする核酸配列を含み得る。一態様では、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAは、核局在化シグナル(NLS)をコードする核酸配列を含み得る。NLSをコードするシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAは、腫瘍学関連ポリペプチドを核内に輸送し、核微小環境に生存または死シグナルを輸送することができるであろう。別の態様では、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAは、NES1および/またはNES2といった、核外輸送シグナルをコードする核酸配列を含み得る。非制限的な例として、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAは、NES1、NES2およびNLSシグナルをコードし得、ならびに、HIF1-アルファと相互作用してがん細胞のトランスクリプトームを改変するために、翻訳可能ではない腫瘍学関連ポリペプチドまたはスクランブル配列をコードし得る。

【0290】

標的選択

本発明に従って、シグナルセンサー一次構築物は、少なくとも1つの目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする結合ヌクレオチドの少なくとも1つの第1の領域を含む。本発明の、目的とする腫瘍学関連ポリペプチド、つまり「標的」または腫瘍学関連タンパク質および腫瘍学関連ペプチドが表6、表7および表41に列記される。腫瘍学関連ポリペプチドは、その機能およびがん介入の領域に基づいてクラスに分けられ得る。例えば、(1)アポトーシスまたは生存シグナルの不釣り合いに関連した標的(AS標的)が挙げられ得る。これらは、カスパーゼ依存またはカスパーゼ非依存性標的；(2)複製能力または抗老化(CC/S標的)；(3)アシドーシスまたは低酸素症(O₂が1%超)の併発を含む代謝性ストレス(M標的)；(4)免疫応答(I標的)；および(5)DNA損傷/保護(DDR標的)であり得る。

【0291】

表6に示されるのは、目的とする腫瘍学関連ポリペプチドの名前および説明に加えて、ENSEMBL転写物ID(ENST)、ENSEMBLタンパク質ID(ENSP)であり、それぞれ適用可能な場所に存在し、ならびに、利用可能な場合には最適化配列番号(OPT. 配列番号)も示される。標的はまた、グループで分類され、「AS」はアポトーシスシグナル伝達に関わる標的を指し；「M」は代謝プロセスに関わる標的を指し、および、「CC/S」は、細胞周期および老化に関わる標的を指す。

表6. 腫瘍学関連標的

10

20

30

40

50

【表 0 0 0 6 - 1】

分類	標的	標的の説明	ENST 識別名	Trans 配列 番号	ENSP 識別名	Prot. 配列 番号	OPT 配列 番号
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, シータポリペプチド	238081	156	238081	1321	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, イータポリペプチド	248975	157	248975	1322	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, イプシロンポリペプチド	264335	158	264335	1323	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, ガンマポリペプチド	307630	159	306330	1324	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, ゼータポリペプチド	353245	160	309503	1325	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, ベータポリペプチド	353703	161	300161	1326	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, ベータポリペプチド	372839	162	361930	1327	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, シータポリペプチド	381844	163	371267	1328	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化	395948	164	379278	1329	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 2】

		タンパク質、ゼータポリペプチド					
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質、ゼータポリペプチド	395951	165	379281	1330	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質、ゼータポリペプチド	395953	166	379283	1331	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質、ゼータポリペプチド	395956	167	379286	1332	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質、ゼータポリペプチド	395957	168	379287	1333	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質、ゼータポリペプチド	395958	169	379288	1334	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質、イプシロンポリペプチド	414131	170	406058	1335	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質、ゼータポリペプチド	418997	171	416551	1336	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質、ゼータポリペプチド	419477	172	395114	1337	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質、ベータポリペプチド	428262	173	394729	1338	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 3】

AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, ゼータポリペプチド	437293	174	394880	1339	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, ベータポリペプチド	445830	175	394558	1340	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, シータポリペプチド	446619	176	398990	1341	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, ガンマポリペプチド	453207	177	390645	1342	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, ゼータポリペプチド	457309	178	398599	1343	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, ゼータポリペプチド	517797	179	427801	1344	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, ゼータポリペプチド	521309	180	429623	1345	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, ゼータポリペプチド	521328	181	429041	1346	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, ゼータポリペプチド	521607	182	430058	1347	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノ	522542	183	430072	1348	

10

20

30

【表 0006-4】

		ノオキシゲナーゼ 活性化 タンパク質, ゼータポリペ プチド					
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナ ーゼ/トリプトファン5-モ ノオキシゲナーゼ 活性化 タンパク質, ゼータポリペ プチド	52281 9	184	42877 5	1349	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナ ーゼ/トリプトファン5-モ ノオキシゲナーゼ 活性化 タンパク質, ゼータポリペ プチド	52313 1	185	42838 1	1350	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナ ーゼ/トリプトファン5-モ ノオキシゲナーゼ 活性化 タンパク質, ゼータポリペ プチド	52384 8	186	42886 0	1351	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナ ーゼ/トリプトファン5-モ ノオキシゲナーゼ 活性化 タンパク質, ガンマポリペ プチド	53675 5	187	44380 3	1352	
AS	14-3-3	チロシン3-モノオキシゲナ ーゼ/トリプトファン5-モ ノオキシゲナーゼ 活性化 タンパク質, シータポリペ プチド	53997 9	188	44322 6	1353	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 1	28729 5	189	28729 5	1354	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 2	30786 4	190	31237 0	1355	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 1	31990 8	191	31512 2	1356	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 3	33360 7	192	32767 1	1357	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 3	33537 5	193	33536 9	1358	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 1	34642 4	194	31632 0	1359	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 2	37324 8	195	36234 5	1360	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 2	39503 9	196	37848 0	1361	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 3	39916 3	197	38211 6	1362	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 5】

AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 3	39916 7	198	38212 0	1363	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 3	40508 9	199	38580 0	1364	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 3	43471 4	200	39965 7	1365	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 3	44023 8	201	39079 8	1366	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 1	44026 3	202	40587 9	1367	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 3	44137 6	203	40206 7	1368	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 1	46043 6	204	43122 2	1369	
AS	AIF	アポトーシス誘発因子, ミ トコンドリア関連, 1	53572 4	205	44611 3	1370	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイル ス性癌遺伝子相同体 3 (プ ロテインキナーゼ B, ガン マ)	26382 6	206	26382 6	1371	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイル ス性癌遺伝子相同体 2	31127 8	207	30942 8	1372	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイル ス性癌遺伝子相同体 3 (プ ロテインキナーゼ B, ガン マ)	33619 9	208	33694 3	1373	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイル ス性癌遺伝子相同体 1	34931 0	209	27020 2	1374	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイル ス性癌遺伝子相同体 2	35833 5	210	35109 5	1375	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイル ス性癌遺伝子相同体 3 (プ ロテインキナーゼ B, ガン マ)	36653 9	211	35549 7	1376	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイル ス性癌遺伝子相同体 3 (プ ロテインキナーゼ B, ガン マ)	36654 0	212	35549 8	1377	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイル ス性癌遺伝子相同体 2	39184 4	213	37571 9	1378	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイル ス性癌遺伝子相同体 2	39203 7	214	37589 1	1379	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイル ス性癌遺伝子相同体 2	39203 8	215	37589 2	1380	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイル ス性癌遺伝子相同体 1	40261 5	216	38532 6	1381	

10

20

30

【表 0006-6】

AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 1	407796	217	384293	1382	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 2	416362	218	407999	1383	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 2	416994	219	392458	1384	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 2	423127	220	403842	1385	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 2	424901	221	399532	1386	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 2	427375	222	403890	1387	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 2	452077	223	404083	1388	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 2	456441	224	396532	1389	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 2	537834	225	441591	1390	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 1	544168	226	443897	1391	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 3 (プロテインキナーゼ B, ガンマ)	552631	227	447820	1392	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 1	554581	228	451828	1393	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 1	554848	229	451166	1394	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 1	555528	230	450688	1395	
AS	AKT (PKB)	v-aktマウス胸腺腫ウイルス性癌遺伝子相同体 1	555926	231	451824	1396	
AS	ANT	溶質輸送体ファミリー 25 (ミトコンドリア輸送体; アデニンヌクレオチドトランスロケーター), メンバー 4	281456	232	281456	1397	
AS	Apaf-1	アポトーシスペプチダーゼ活性化因子1	333991	233	334558	1398	
AS	Apaf-1	アポトーシスペプチダーゼ活性化因子1	339433	234	341830	1399	
AS	Apaf-1	アポトーシスペプチダーゼ活性化因子1	357310	235	349862	1400	
AS	Apaf-1	アポトーシスペプチダーゼ活性化因子1	359972	236	353059	1401	
AS	Apaf-1	アポトーシスペプチダーゼ活性化因子1	547045	237	449791	1402	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 7】

AS	Apaf-1	アポトーシスペプチダーゼ 活性化因子1	54900 7	238	44816 1	1403	
AS	Apaf-1	アポトーシスペプチダーゼ 活性化因子1	55052 7	239	44844 9	1404	
AS	Apaf-1	アポトーシスペプチダーゼ 活性化因子1	55196 4	240	44816 5	1405	
AS	Apaf-1	アポトーシスペプチダーゼ 活性化因子1	55226 8	241	44882 6	1406	
AS	APRIL (TNFS F13)	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 13	33878 4	242	34350 5	1407	
AS	APRIL (TNFS F13)	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 13	34922 8	243	31445 5	1408	
AS	APRIL (TNFS F13)	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 13	38053 5	244	36990 8	1409	
AS	APRIL (TNFS F13)	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 13	39654 5	245	37979 4	1410	
AS	ARTS	ホスホリボシルピロリン酸 シンテターゼ 1	37241 8	246	36149 5	1411	
AS	ARTS	ホスホリボシルピロリン酸 シンテターゼ 1	37241 9	247	36149 6	1412	
AS	ARTS	ホスホリボシルピロリン酸 シンテターゼ 1	37242 8	248	36150 5	1413	
AS	ARTS	ホスホリボシルピロリン酸 シンテターゼ 1	37243 5	249	36151 2	1414	
AS	ARTS	ホスホリボシルピロリン酸 シンテターゼ 1	54324 8	250	44318 5	1415	
AS	ASK1 (MAP3 K5)	マイトジェン活性化プロテ インキナーゼキナーゼキナ ーゼ 5	35584 5	251	34810 4	1416	
AS	ASK1 (MAP3 K5)	マイトジェン活性化プロテ インキナーゼキナーゼキナ ーゼ 5	35901 5	252	35190 8	1417	
AS	ASK1 (MAP3 K5)	マイトジェン活性化プロテ インキナーゼキナーゼキナ ーゼ 5	36776 8	253	35674 2	1418	
AS	BAD	細胞死のBCL2関連アゴニ スト	30903 2	254	30910 3	1419	
AS	BAD	細胞死のBCL2関連アゴニ スト	39453 2	255	37804 0	1420	
AS	BAD	細胞死のBCL2関連アゴニ スト	54015 2	256	44080 7	1421	
AS	BAFF(	腫瘍壊死因子 (リガンド)	37588	257	36504	1422	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 8】

	TNFSF 13B)	スーパーファミリー, メンバー 13b	7		8		
AS	BAFF(TNFSF 13B)	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メンバー 13b	430559	258	389540	1423	
AS	BAFF(TNFSF 13B)	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メンバー 13b	542136	259	445334	1424	
AS	Bak	BCL2アンタゴニスト/キラー 1	360661	260	353878	1425	
AS	Bak	BCL2アンタゴニスト/キラー 1	374460	261	363584	1426	
AS	Bak	BCL2アンタゴニスト/キラー 1	374467	262	363591	1427	
AS	Bak	BCL2アンタゴニスト/キラー 1	442998	263	391258	1428	
AS	BAX	BCL2関連Xタンパク質	293288	264	293288	1429	
AS	BAX	BCL2関連Xタンパク質	345358	265	263262	1430	
AS	BAX	BCL2関連Xタンパク質	354470	266	346461	1431	
AS	BAX	BCL2関連Xタンパク質	391871	267	375744	1432	
AS	BAX	BCL2関連Xタンパク質	415969	268	389971	1433	
AS	BAX	BCL2関連Xタンパク質	539787	269	441413	1434	
AS	Bcl-2	B細胞CLL/リンパ腫2	333681	270	329623	1435	
AS	Bcl-2	B細胞CLL/リンパ腫2	398117	271	381185	1436	
AS	Bcl-2	B細胞CLL/リンパ腫2	444484	272	404214	1437	
AS	Bcl-B	BCL2様 10 (アポトーシス助長因子)	260442	273	260442	1438	
AS	Bcl-W	BCL2様 2	250405	274	250405	1439	
AS	Bcl-W	BCL2様 2	554635	275	451234	1440	
AS	Bcl-W	BCL2様 2	557236	276	451701	1441	
AS	Bcl-W	BCL2様 2	557579	277	452265	1442	
AS	Bcl-XL	BCL2様 1	307677	278	302564	1443	
AS	Bcl-XL	BCL2様 1	376055	279	365223	1444	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 9】

AS	Bcl-XL	BCL2様 1	37606 2	280	36523 0	1445	
AS	Bcl-XL	BCL2様 1	42048 8	281	39076 0	1446	
AS	Bcl-XL	BCL2様 1	42065 3	282	40556 3	1447	
AS	Bcl-XL	BCL2様 1	42292 0	283	41125 2	1448	
AS	Bcl-XL	BCL2様 1	43926 7	284	38968 8	1449	
AS	Bcl-XL	BCL2様 1	45027 3	285	40620 3	1450	
AS	Bcl-XL	BCL2様 1	45640 4	286	39554 5	1451	
AS	BCMA	腫瘍壊死因子 受容体 スーパーファミリー, メンバー 17	53243	287	53243	1452	
AS	BCMA	腫瘍壊死因子 受容体 スーパーファミリー, メンバー 17	39649 5	288	37975 3	1453	
AS	BCMA	腫瘍壊死因子 受容体 スーパーファミリー, メンバー 17	43535 5	289	40178 2	1454	
AS	BFL1	BCL2関連タンパク質 A1	26795 3	290	26795 3	1455	
AS	BFL1	BCL2関連タンパク質 A1	33566 1	291	33525 0	1456	
AS	Bid	BH3共役ドメインデスアゴニスト	31736 1	292	31882 2	1457	
AS	Bid	BH3共役ドメインデスアゴニスト	34211 1	293	34459 4	1458	
AS	Bid	BH3共役ドメインデスアゴニスト	39976 5	294	38266 7	1459	
AS	Bid	BH3共役ドメインデスアゴニスト	39976 7	295	38266 9	1460	
AS	Bid	BH3共役ドメインデスアゴニスト	39977 4	296	38267 4	1461	
AS	Bid	BH3共役ドメインデスアゴニスト	55195 2	297	44923 6	1462	
AS	Bik	BCL2相互作用キラー(アポトーシス誘発性)	21611 5	298	21611 5	1463	
AS	Bim	BCL2様 11 (アポトーシス助長因子)	30865 9	299	30922 6	1464	
AS	Bim	BCL2様 11 (アポトーシス助長因子)	33756 5	300	33837 4	1465	
AS	Bim	BCL2様 11 (アポトーシス助長因子)	35775 7	301	35039 8	1466	
AS	Bim	BCL2様 11 (アポトーシス助長因子)	39325	302	37694	1467	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 1 0】

		助長因子)	2		1		
AS	Bim	BCL2様 11 (アポトーシス 助長因子)	39325 3	303	37694 2	1468	
AS	Bim	BCL2様 11 (アポトーシス 助長因子)	39325 6	304	37694 3	1469	
AS	Bim	BCL2様 11 (アポトーシス 助長因子)	43217 9	305	41187 0	1470	
AS	Bim	BCL2様 11 (アポトーシス 助長因子)	45203 3	306	40366 6	1471	
AS	BMF	Bcl2 修飾因子	22044 6	307	22044 6	1472	
AS	BMF	Bcl2 修飾因子	35467 0	308	34669 7	1473	
AS	BMF	Bcl2 修飾因子	39757 3	309	38070 3	1474	
AS	BMF	Bcl2 修飾因子	43141 5	310	39651 1	1475	
AS	BMF	Bcl2 修飾因子	55970 1	311	45391 9	1476	
AS	BMF	Bcl2 修飾因子	56128 2	312	45352 2	1477	
AS	BMF	Bcl2 修飾因子	56136 0	313	45389 2	1478	
AS	BRE	脳および生殖器官発現 (TNFRSF1A モジュレーター →)	34204 5	314	33937 1	1479	
AS	BRE	脳および生殖器官発現 (TNFRSF1A モジュレーター →)	34477 3	315	34341 2	1480	
AS	BRE	脳および生殖器官発現 (TNFRSF1A モジュレーター →)	36170 4	316	35469 9	1481	
AS	BRE	脳および生殖器官発現 (TNFRSF1A モジュレーター →)	37962 3	317	36894 4	1482	
AS	BRE	脳および生殖器官発現 (TNFRSF1A モジュレーター →)	37962 4	318	36894 5	1483	
AS	BRE	脳および生殖器官発現 (TNFRSF1A モジュレーター →)	37963 2	319	36895 3	1484	
AS	BRE	脳および生殖器官発現 (TNFRSF1A モジュレーター →)	43692 4	320	39234 5	1485	
AS	Calcine urin A	プロテインホスファターゼ 3, 触媒サブユニット, アル ファアイソザイム	32305 5	321	32058 0	1486	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 1 1】

AS	Calcineurin A	プロテインホスファターゼ3, 触媒サブユニット, アルファアイソザイム	394853	322	378322	1487	
AS	Calcineurin A	プロテインホスファターゼ3, 触媒サブユニット, アルファアイソザイム	394854	323	378323	1488	
AS	Calcineurin A	プロテインホスファターゼ3, 触媒サブユニット, アルファアイソザイム	507176	324	422990	1489	
AS	Calcineurin A	プロテインホスファターゼ3, 触媒サブユニット, アルファアイソザイム	512215	325	422781	1490	
AS	Calcineurin A	プロテインホスファターゼ3, 触媒サブユニット, アルファアイソザイム	523694	326	429350	1491	
AS	Calcineurin A	プロテインホスファターゼ3, 触媒サブユニット, アルファアイソザイム	525819	327	434599	1492	
AS	Calcineurin A	プロテインホスファターゼ3, 触媒サブユニット, アルファアイソザイム	529324	328	431619	1493	
AS	カスパーゼ1	カスパーゼ1, アポトーシス関連システインペプチダーゼ (インターロイキン1, ベータ, コンパターゼ)	353247	329	344132	1494	
AS	カスパーゼ1	カスパーゼ1, アポトーシス関連システインペプチダーゼ (インターロイキン1, ベータ, コンパターゼ)	393136	330	376844	1495	
AS	カスパーゼ1	カスパーゼ1, アポトーシス関連システインペプチダーゼ (インターロイキン1, ベータ, コンパターゼ)	415981	331	408446	1496	
AS	カスパーゼ1	カスパーゼ1, アポトーシス関連システインペプチダーゼ (インターロイキン1, ベータ, コンパターゼ)	436863	332	410076	1497	
AS	カスパーゼ1	カスパーゼ1, アポトーシス関連システインペプチダーゼ (インターロイキン1, ベータ, コンパターゼ)	446369	333	403260	1498	
AS	カスパーゼ1	カスパーゼ1, アポトーシス関連システインペプチダーゼ (インターロイキン1, ベータ, コンパターゼ)	525825	334	434779	1499	
AS	カスパーゼ1	カスパーゼ1, アポトーシス関連システインペプチダー	526568	335	434250	1500	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 1 2】

		ゼ (インターロイキン1, ベータ, コンパターゼ)					
AS	カスパーゼ1	カスパーゼ1, アポトーシス関連システインペプチダーゼ (インターロイキン1, ベータ, コンパターゼ)	528974	336	434259	1501	
AS	カスパーゼ1	カスパーゼ1, アポトーシス関連システインペプチダーゼ (インターロイキン1, ベータ, コンパターゼ)	529871	337	431947	1502	
AS	カスパーゼ1	カスパーゼ1, アポトーシス関連システインペプチダーゼ (インターロイキン1, ベータ, コンパターゼ)	531166	338	434303	1503	
AS	カスパーゼ1	カスパーゼ1, アポトーシス関連システインペプチダーゼ (インターロイキン1, ベータ, コンパターゼ)	533400	339	433138	1504	
AS	カスパーゼ1	カスパーゼ1, アポトーシス関連システインペプチダーゼ (インターロイキン1, ベータ, コンパターゼ)	534497	340	436875	1505	
AS	カスパーゼ10	カスパーゼ10, アポトーシス関連システインペプチダーゼ	272879	341	272879	1506	
AS	カスパーゼ10	カスパーゼ10, アポトーシス関連システインペプチダーゼ	286186	342	286186	1507	
AS	カスパーゼ10	カスパーゼ10, アポトーシス関連システインペプチダーゼ	346817	343	237865	1508	
AS	カスパーゼ10	カスパーゼ10, アポトーシス関連システインペプチダーゼ	360132	344	353250	1509	
AS	カスパーゼ2	カスパーゼ2, アポトーシス関連システインペプチダーゼ	310447	345	312664	1510	
AS	カスパーゼ2	カスパーゼ2, アポトーシス関連システインペプチダーゼ	350623	346	340030	1511	
AS	カスパーゼ2	カスパーゼ2, アポトーシス関連システインペプチダーゼ	392923	347	376654	1512	
AS	カスパーゼ3	カスパーゼ3, アポトーシス関連システインペプチダーゼ	308394	348	311032	1513	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 1 3】

AS	カスパーゼ3	カスパーゼ3, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	43846 7	349	39079 2	1514	
AS	カスパーゼ3	カスパーゼ3, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	44712 1	350	40714 2	1515	
AS	カスパーゼ3	カスパーゼ3, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	52391 6	351	42892 9	1516	
AS	カスパーゼ4	カスパーゼ4, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	35554 6	352	34774 1	1517	
AS	カスパーゼ4	カスパーゼ4, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	41744 0	353	40167 3	1518	
AS	カスパーゼ4	カスパーゼ4, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	44473 9	354	38856 6	1519	
AS	カスパーゼ5	カスパーゼ5, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	26031 5	355	26031 5	1520	
AS	カスパーゼ5	カスパーゼ5, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	39313 9	356	37684 7	1521	
AS	カスパーゼ5	カスパーゼ5, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	39314 1	357	37684 9	1522	
AS	カスパーゼ5	カスパーゼ5, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	41843 4	358	39813 0	1523	
AS	カスパーゼ5	カスパーゼ5, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	44474 9	359	38836 5	1524	
AS	カスパーゼ5	カスパーゼ5, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	52605 6	360	43687 7	1525	
AS	カスパーゼ5	カスパーゼ5, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	53136 7	361	43447 1	1526	
AS	カスパーゼ6	カスパーゼ6, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	26516 4	362	26516 4	1527	
AS	カスパーゼ6	カスパーゼ6, アポトーシス 関連システインペプチダーゼ	35298 1	363	28533 3	1528	
AS	カスパーゼ7	カスパーゼ7, アポトーシス	34563 3	364	29870 1	1529	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 1 4】

	ーゼ7	関連システインペプチダーゼ					
AS	カスパ ーゼ7	カスパーゼ7, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	36931 5	365	35832 1	1530	
AS	カスパ ーゼ7	カスパーゼ7, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	36931 6	366	35832 2	1531	
AS	カスパ ーゼ7	カスパーゼ7, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	36931 8	367	35832 4	1532	
AS	カスパ ーゼ7	カスパーゼ7, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	36931 9	368	35832 5	1533	
AS	カスパ ーゼ7	カスパーゼ7, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	36932 1	369	35832 7	1534	
AS	カスパ ーゼ7	カスパーゼ7, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	36933 1	370	35833 7	1535	
AS	カスパ ーゼ7	カスパーゼ7, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	42961 7	371	40009 4	1536	
AS	カスパ ーゼ7	カスパーゼ7, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	44239 3	372	39448 2	1537	
AS	カスパ ーゼ7	カスパーゼ7, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	45249 0	373	39810 7	1538	
AS	カスパ ーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	26427 4	374	26427 4	1539	
AS	カスパ ーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	26427 5	375	26427 5	1540	
AS	カスパ ーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	32349 2	376	32572 2	1541	
AS	カスパ ーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	35848 5	377	35127 3	1542	
AS	カスパ ーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	39225 8	378	37608 7	1543	
AS	カスパ ーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー	39225 9	379	37608 8	1544	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 1 5】

		ゼ					
AS	カスパーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	39226 1	380	37608 9	1545	
AS	カスパーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	39226 3	381	37609 1	1546	
AS	カスパーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	39226 6	382	37609 4	1547	
AS	カスパーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	41372 6	383	39752 8	1548	
AS	カスパーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	42988 1	384	39064 1	1549	
AS	カスパーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	43210 9	385	41252 3	1550	
AS	カスパーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	44073 2	386	39686 9	1551	
AS	カスパーゼ8	カスパーゼ8, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	44761 6	387	38830 6	1552	
AS	カスパーゼ9	カスパーゼ9, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	33386 8	388	33023 7	1553	
AS	カスパーゼ9	カスパーゼ9, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	34854 9	389	25525 6	1554	
AS	カスパーゼ9	カスパーゼ9, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	37587 4	390	36503 4	1555	
AS	カスパーゼ9	カスパーゼ9, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	37589 0	391	36505 1	1556	
AS	カスパーゼ9	カスパーゼ9, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	44048 4	392	41130 4	1557	
AS	カスパーゼ9	カスパーゼ9, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	44752 2	393	39654 0	1558	
AS	カスパーゼ9	カスパーゼ9, アポトーシス 関連システインペプチダー ゼ	54642 4	394	44958 4	1559	

10

20

30

【表 0006-16】

AS	CD27	CD27分子	26655 7	395	26655 7	1560	
AS	CD30	腫瘍壊死因子 受容体 スーパーファミリー, メンバー 8	26393 2	396	26393 2	1561	
AS	CD30	腫瘍壊死因子 受容体 スーパーファミリー, メンバー 8	41314 6	397	39833 7	1562	
AS	CD30	腫瘍壊死因子 受容体 スーパーファミリー, メンバー 8	41781 4	398	39065 0	1563	
AS	CD30L	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メンバー 8	22379 5	399	22379 5	1564	
AS	CD40	CD40 分子, TNF 受容体 スーパーファミリー メンバー 5	37227 8	400	36135 2	1565	
AS	CD40L (TNFSF5)	CD40 リガンド	37062 8	401	35966 2	1566	
AS	CD40L (TNFSF5)	CD40 リガンド	37062 9	402	35966 3	1567	
AS	CD41	CD40 分子, TNF 受容体 スーパーファミリー メンバー 5	37227 6	403	36135 0	1568	
AS	CD42	CD40 分子, TNF 受容体 スーパーファミリー メンバー 5	37228 5	404	36135 9	1569	
AS	CD70 (TNFSF7)	CD70分子	24590 3	405	24590 3	1570	
AS	CD70 (TNFSF7)	CD70分子	42314 5	406	39529 4	1571	
AS	CDK1 (p34)	サイクリン依存性キナーゼ 1	31662 9	407	32597 0	1572	
AS	CDK1 (p34)	サイクリン依存性キナーゼ 1	37380 9	408	36291 5	1573	
AS	CDK1 (p34)	サイクリン依存性キナーゼ 1	39528 4	409	37869 9	1574	
AS	CDK1 (p34)	サイクリン依存性キナーゼ 1	44825 7	410	39797 3	1575	
AS	CDK1 (p34)	サイクリン依存性キナーゼ 1	51907 8	411	43066 5	1576	
AS	CDK5	サイクリン依存性キナーゼ 5	48597 2	412	41978 2	1577	
AS	CDK5	サイクリン依存性キナーゼ	31340	413	31848	1578	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 1 7】

	R1 (p35)	5, 制御サブユニット 1 (p35)	1		6		
AS	c- FLIP(S)	CASP8およびFADD様ア ポトーシス調節因子	30995 5	414	31245 5	1579	
AS	c- FLIP(S)	CASP8およびFADD様ア ポトーシス調節因子	34087 0	415	33932 6	1580	
AS	c- FLIP(S)	CASP8およびFADD様ア ポトーシス調節因子	34337 5	416	33939 1	1581	
AS	c- FLIP(S)	CASP8およびFADD様ア ポトーシス調節因子	35555 8	417	34775 7	1582	
AS	c- FLIP(S)	CASP8およびFADD様ア ポトーシス調節因子	39514 8	418	37858 0	1583	
AS	c- FLIP(S)	CASP8およびFADD様ア ポトーシス調節因子	41774 8	419	41288 2	1584	
AS	c- FLIP(S)	CASP8およびFADD様ア ポトーシス調節因子	42324 1	420	39942 0	1585	
AS	c- FLIP(S)	CASP8およびFADD様ア ポトーシス調節因子	43344 5	421	39102 9	1586	
AS	c- FLIP(S)	CASP8およびFADD様ア ポトーシス調節因子	44122 4	422	41189 7	1587	
AS	c- FLIP(S)	CASP8およびFADD様ア ポトーシス調節因子	44322 7	423	41327 0	1588	
AS	cIAP1	バキュロウイルスIAP繰り 返し配列含有3	NA	424	NA	1589	2488
AS	c-IAP1	バキュロウイルスIAP繰り 返し配列含有3	26346 4	425	26346 4	1590	
AS	c-IAP1	バキュロウイルスIAP繰り 返し配列含有3	53280 8	426	43290 7	1591	
AS	cIAP2	バキュロウイルスIAP繰り 返し配列含有2	NA	427	NA	1592	
AS	C-IAP2	バキュロウイルスIAP繰り 返し配列含有2	22775 8	428	22775 8	1593	
AS	C-IAP2	バキュロウイルスIAP繰り 返し配列含有2	53067 5	429	43172 3	1594	
AS	C-IAP2	バキュロウイルスIAP繰り 返し配列含有2	53267 2	430	43497 9	1595	
AS	C-IAP2	バキュロウイルスIAP繰り 返し配列含有2	54174 1	431	44077 1	1596	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 1 8】

AS	c-Jun	jun 癌原遺伝子	37122 2	432	36026 6	1597	
AS	c-Raf-1	vraf-1 マウス白血病ウイルス癌遺伝子相同体 1	25184 9	433	25184 9	1598	
AS	c-Raf-1	vraf-1 マウス白血病ウイルス癌遺伝子相同体 1	44241 5	434	40188 8	1599	
AS	c-Raf-1	vraf-1 マウス白血病ウイルス癌遺伝子相同体 1	53499 7	435	44118 6	1600	
AS	c-Raf-1	vraf-1 マウス白血病ウイルス癌遺伝子相同体 1	54217 7	436	44356 7	1601	
AS	チトクロムc	チトクロムc, 体細胞	30578 6	437	30778 6	1602	
AS	チトクロムc	チトクロムc, 体細胞	40940 9	438	38627 0	1603	
AS	チトクロムc	チトクロムc, 体細胞	40976 4	439	38727 9	1604	
AS	チトクロムc	チトクロムc, 体細胞	41344 7	440	41647 9	1605	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	26600 0	441	26600 0	1606	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	37454 2	442	36366 8	1607	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	38306 2	443	37253 9	1608	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	38319 4	444	37268 1	1609	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	39906 0	445	38201 4	1610	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	39934 4	446	38228 1	1611	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	41408 3	447	39687 6	1612	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	41427 2	448	40975 6	1613	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	41985 5	449	39761 2	1614	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	42826 8	450	40821 5	1615	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	42953 1	451	41589 8	1616	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	43348 2	452	40462 3	1617	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	43631 1	453	40437 6	1618	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	43833 2	454	41170 0	1619	

10

20

30

【表 0006-19】

AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	440500	455	403986	1620	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	445009	456	394108	1621	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	446403	457	406008	1622	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	453407	458	408499	1623	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	453931	459	412433	1624	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	454197	460	412177	1625	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	455860	461	410772	1626	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	547663	462	447115	1627	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	548604	463	448337	1628	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	550822	464	447861	1629	
AS	DAXX	デスドメイン関連タンパク質	552944	465	447833	1630	
AS	DcR3	腫瘍壊死因子 受容体スーパーファミリー, メンバー6b, デコイ	342852	466	342328	1631	
AS	DcR3	腫瘍壊死因子 受容体スーパーファミリー, メンバー6b, デコイ	369996	467	359013	1632	
AS	DcR3	腫瘍壊死因子 受容体スーパーファミリー, メンバー6b, デコイ	370006	468	359023	1633	
AS	DFF40 (CAD)	DNA断片化因子, 40kDa, ベータポリペプチド (カスパーゼ活性化DNase)	338895	469	339524	1634	
AS	DFF40 (CAD)	DNA断片化因子, 40kDa, ベータポリペプチド (カスパーゼ活性化DNase)	339350	470	343218	1635	
AS	DFF40 (CAD)	DNA断片化因子, 40kDa, ベータポリペプチド (カスパーゼ活性化DNase)	341385	471	345906	1636	
AS	DFF40 (CAD)	DNA断片化因子, 40kDa, ベータポリペプチド (カスパーゼ活性化DNase)	378206	472	367448	1637	
AS	DFF40 (CAD)	DNA断片化因子, 40kDa, ベータポリペプチド (カスパーゼ活性化DNase)	378209	473	367454	1638	

10

20

30

【表 0006-20】

AS	DFF40 (CAD)	DNA断片化因子, 40kDa, ベータポリペプチド (カス パーゼ活性化DNase)	37821 2	474	36745 7	1639	
AS	DFF40 (CAD)	DNA断片化因子, 40kDa, ベータポリペプチド (カス パーゼ活性化DNase)	43053 9	475	38950 2	1640	
AS	DFF40 (CAD)	DNA断片化因子, 40kDa, ベータポリペプチド (カス パーゼ活性化DNase)	44863 2	476	41163 5	1641	
AS	DFF40 (CAD)	DNA断片化因子, 40kDa, ベータポリペプチド (カス パーゼ活性化DNase)	49199 8	477	43677 5	1642	
AS	DR3	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 25	34833 3	478	31445 1	1643	
AS	DR3	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 25	35174 8	479	32676 2	1644	
AS	DR3	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 25	35195 9	480	33771 3	1645	
AS	DR3	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 25	35687 6	481	34934 1	1646	
AS	DR3	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 25	37778 2	482	36701 3	1647	
AS	DR4	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 10a	22113 2	483	22113 2	1648	
AS	DR5	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 10b	27643 1	484	27643 1	1649	
AS	DR5	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 10b	34773 9	485	31785 9	1650	
AS	DR5	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 10b	54222 6	486	44338 6	1651	
AS	DR6	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 21	29686 1	487	29686 1	1652	
AS	DR6	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 21	41920 6	488	39003 2	1653	
AS	EGFR	上皮増殖因子 受容体	27549 3	489	27549 3	1654	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 2 1】

AS	EGFR	上皮増殖因子 受容体	34291 6	490	34237 6	1655	
AS	EGFR	上皮増殖因子 受容体	34457 6	491	34597 3	1656	
AS	EGFR	上皮増殖因子 受容体	39550 4	492	37888 0	1657	
AS	EGFR	上皮増殖因子 受容体	42031 6	493	41384 3	1658	
AS	EGFR	上皮増殖因子 受容体	44259 1	494	41003 1	1659	
AS	EGFR	上皮増殖因子 受容体	45475 7	495	39524 3	1660	
AS	EGFR	上皮増殖因子 受容体	45508 9	496	41555 9	1661	
AS	EGFR	上皮増殖因子 受容体	53345 0	497	43526 2	1662	
AS	ErbB2	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウ イルス癌遺伝子相同体2, 神 経/神経膠芽腫由来癌遺伝 子相同体 (鳥類)	26957 1	498	26957 1	1663	
AS	ErbB2	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウ イルス癌遺伝子相同体2, 神 経/神経膠芽腫由来癌遺伝 子相同体 (鳥類)	40638 1	499	38518 5	1664	
AS	ErbB2	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウ イルス癌遺伝子相同体2, 神 経/神経膠芽腫由来癌遺伝 子相同体 (鳥類)	44565 8	500	40404 7	1665	
AS	ErbB2	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウ イルス癌遺伝子相同体2, 神 経/神経膠芽腫由来癌遺伝 子相同体 (鳥類)	54004 2	501	44638 2	1666	
AS	ErbB2	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウ イルス癌遺伝子相同体2, 神 経/神経膠芽腫由来癌遺伝 子相同体 (鳥類)	54014 7	502	44356 2	1667	
AS	ErbB2	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウ イルス癌遺伝子相同体2, 神 経/神経膠芽腫由来癌遺伝 子相同体 (鳥類)	54177 4	503	44646 6	1668	
AS	ErbB3	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウ イルス癌遺伝子相同体 3 (鳥類)	26710 1	504	26710 1	1669	
AS	ErbB3	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウ イルス癌遺伝子相同体 3 (鳥類)	39409 9	505	37765 9	1670	
AS	ErbB3	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウ イルス癌遺伝子相同体 3	41173 1	506	41575 3	1671	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 2 2】

		(鳥類)					
AS	ErbB3	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウイルス癌遺伝子相同体 (鳥類) 3	415288	507	408340	1672	
AS	ErbB3	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウイルス癌遺伝子相同体 (鳥類) 3	450146	508	399178	1673	
AS	ErbB3	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウイルス癌遺伝子相同体 (鳥類) 3	549282	509	448636	1674	
AS	ErbB3	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウイルス癌遺伝子相同体 (鳥類) 3	551085	510	448483	1675	
AS	Erk(MAPK1/3)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 1	215832	511	215832	1676	
AS	Erk(MAPK1/3)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 3	263025	512	263025	1677	
AS	Erk(MAPK1/3)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 3	322266	513	327293	1678	
AS	Erk(MAPK1/3)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 3	395200	514	378626	1679	
AS	Erk(MAPK1/3)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 3	395202	515	378628	1680	
AS	Erk(MAPK1/3)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 1	398822	516	381803	1681	
AS	Erk(MAPK1/3)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 3	403394	517	384895	1682	
AS	Erk(MAPK1/3)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 1	415911	518	409149	1683	
AS	Erk(MAPK1/3)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 3	484663	519	432742	1684	
AS	Erk(MAPK1/3)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 1	544786	520	440842	1685	
AS	FADD	死領域を介した Fas(TNFRSF6)-関連	301838	521	301838	1686	
AS	FLA5H	カスパーゼ8関連タンパク質 2	237177	522	NA	1687	
AS	FLA5H	カスパーゼ8関連タンパク質	419040	523	NA		

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 2 3】

		質 2					
AS	FLAS H	カスパーゼ8関連タンパク 質 2	44416 3	524	NA		
AS	FLAS H	カスパーゼ8関連タンパク 質 2	54789 3	525	NA		
AS	FLAS H	カスパーゼ8関連タンパク 質 2	54822 4	526	NA		
AS	FLAS H	カスパーゼ8関連タンパク 質 2	55102 5	527	NA		
AS	FLAS H	カスパーゼ8関連タンパク 質 2	55240 1	528	NA		
AS	FN14	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 12A	32657 7	529	32673 7	1688	
AS	FN14	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 12A	34162 7	530	34389 4	1689	
AS	GCK (MAP4 K2)	マイトジェン活性化プロテ インキナーゼキナーゼキナ ーゼキナーゼ 2	29406 6	531	29406 6	1690	
AS	GRB2	成長因子受容体結合タンパ ク質 2	31661 5	532	31736 0	1691	
AS	GRB2	成長因子受容体結合タンパ ク質 2	31680 4	533	33900 7	1692	
AS	GRB2	成長因子受容体結合タンパ ク質 2	39256 2	534	37634 5	1693	
AS	GRB2	成長因子受容体結合タンパ ク質 2	39256 4	535	37634 7	1694	
AS	H-Ras	v-Ha-ras Harveyラット肉 腫ウイルス癌遺伝子相同体	31118 9	536	30984 5	1695	
AS	H-Ras	v-Ha-ras Harveyラット肉 腫ウイルス癌遺伝子相同体	39759 4	537	38072 2	1696	
AS	H-Ras	v-Ha-ras Harveyラット肉 腫ウイルス癌遺伝子相同体	39759 6	538	38072 3	1697	
AS	H-Ras	v-Ha-ras Harveyラット肉 腫ウイルス癌遺伝子相同体	41730 2	539	38824 6	1698	
AS	H-Ras	v-Ha-ras Harveyラット肉 腫ウイルス癌遺伝子相同体	45159 0	540	40758 6	1699	
AS	H-Ras	v-Ha-ras Harveyラット肉 腫ウイルス癌遺伝子相同体	49323 0	541	43402 3	1700	
AS	HRK	ハラキリ, BCL2 相互作用 タンパク質 (BH3ドメイン のみを含む)	25757 2	542	25757 2	1701	
AS	HSP27	熱ショック27kDaタンパク 質 1	24855 3	543	24855 3	1702	
AS	HSP27	熱ショック27kDaタンパク	30200	544	30339	1703	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 2 4】

		質 3	5		4		
AS	HSP27	熱ショックタンパク質 ベータ-2	304298	545	302476	1704	
AS	HSP27	熱ショック27kDaタンパク質 1	432276	546	406545	1705	
AS	HSP27	熱ショックタンパク質 ベータ-2	537382	547	445585	1706	
AS	HtrA2/Omi	HtrA セリンペプチターゼ 2	258080	548	258080	1707	
AS	HtrA2/Omi	HtrA セリンペプチターゼ 2	352222	549	312893	1708	
AS	Humanin	MT-RNR2様 4	399974	550	382856	1709	
AS	Humanin	MT-RNR2様 5	512524	551	437910	1710	
AS	Humanin	MT-RNR2様 8	536684	552	439666	1711	
AS	Humanin	MT-RNR2様 1	540040	553	439228	1712	
AS	Humanin	MT-RNR2様 3	543500	554	443339	1713	
AS	Humanin	MT-RNR2様 7	544824	555	439985	1714	
AS	Humanin	MT-RNR2様 10	545075	556	442159	1715	
AS	Humanin	MT-RNR2様 6	570419	557	461075	1716	
AS	ICAD	DNA断片化因子, 45kDa, アルファポリペプチド	377036	558	366235	1717	
AS	ICAD	DNA断片化因子, 45kDa, アルファポリペプチド	377038	559	366237	1718	
AS	IGF-1R	インスリン様成長因子 1 受容体	268035	560	268035	1719	
AS	IKK (アルファ)	conserved helix-loop-helix ubiquitous キナーゼ	370397	561	359424	1720	
AS	IKK (ベータ)	B細胞カッパ軽ポリペプチド遺伝子エンハンサー阻害剤, キナーゼ ベータ	379708	562	369030	1721	
AS	IKK (ベータ)	B細胞カッパ軽ポリペプチド遺伝子エンハンサー阻害剤, キナーゼ ベータ	416505	563	404920	1722	
AS	IKK (ベータ)	B細胞カッパ軽ポリペプチド遺伝子エンハンサー阻害剤, キナーゼ ベータ	520810	564	430684	1723	
AS	IKK-ガンマ	B細胞カッパ軽ポリペプチド遺伝子エンハンサー阻害剤, キナーゼ ガンマ	263518	565	263518	1724	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 2 5】

AS	IKK-ガンマ	B細胞カッパ軽ポリペプチド遺伝子エンハンサー阻害剤, キナーゼ ガンマ	369601	566	358614	1725	
AS	IKK-ガンマ	B細胞カッパ軽ポリペプチド遺伝子エンハンサー阻害剤, キナーゼ ガンマ	369606	567	358619	1726	
AS	IKK-ガンマ	B細胞カッパ軽ポリペプチド遺伝子エンハンサー阻害剤, キナーゼ ガンマ	369607	568	358620	1727	
AS	IKK-ガンマ	B細胞カッパ軽ポリペプチド遺伝子エンハンサー阻害剤, キナーゼ ガンマ	369609	569	358622	1728	
AS	IKK-ガンマ	B細胞カッパ軽ポリペプチド遺伝子エンハンサー阻害剤, キナーゼ ガンマ	422680	570	390368	1729	
AS	IKK-ガンマ	B細胞カッパ軽ポリペプチド遺伝子エンハンサー阻害剤, キナーゼ ガンマ	440286	571	394934	1730	
AS	IKK-ガンマ	B細胞カッパ軽ポリペプチド遺伝子エンハンサー阻害剤, キナーゼ ガンマ	445622	572	395205	1731	
AS	IKK-ガンマ	B細胞カッパ軽ポリペプチド遺伝子エンハンサー阻害剤, キナーゼ ガンマ	455588	573	400769	1732	
AS	IRAK1	インターロイキン1 受容体関連 キナーゼ 1	369980	574	358997	1733	
AS	IRAK1	インターロイキン1 受容体関連 キナーゼ 1	393682	575	377287	1734	
AS	IRAK1	インターロイキン1 受容体関連 キナーゼ 1	393687	576	377291	1735	
AS	IRAK1	インターロイキン1 受容体関連 キナーゼ 1	429936	577	392662	1736	
AS	IRAK2	インターロイキン1 受容体関連 キナーゼ 2	256458	578	256458	1737	
AS	IRS-1	インスリン受容体基質 1	305123	579	304895	1738	
AS	jBid; 25位で BIDを切断後に形成	jBID	NA		NA	1739	
AS	JNK1(MAPK 8)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 8	360332	580	353483	1740	
AS	JNK1(MAPK 8)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 8	374174	581	363289	1741	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 2 6】

AS	JNK1(MAPK 8)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 8	37417 6	582	36329 1	1742	
AS	JNK1(MAPK 8)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 8	37417 9	583	36329 4	1743	
AS	JNK1(MAPK 8)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 8	37418 2	584	36329 7	1744	
AS	JNK1(MAPK 8)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 8	37418 9	585	36330 4	1745	
AS	JNK1(MAPK 8)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 8	39561 1	586	37897 4	1746	
AS	JNK1(MAPK 8)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 8	42655 7	587	39772 9	1747	
AS	JNK1(MAPK 8)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 8	42904 1	588	39322 3	1748	
AS	JNK1(MAPK 8)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 8	43237 9	589	38793 6	1749	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	35922 1	590	35215 7	1750	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	36156 9	591	35529 7	1751	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	39515 7	592	37858 6	1752	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	39516 0	593	37858 9	1753	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	39516 1	594	37859 0	1754	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	39516 6	595	37859 5	1755	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	39516 9	596	37859 8	1756	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	44904 7	597	41446 9	1757	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	50230 2	598	42391 8	1758	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 2 7】

	10)						
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	50391 1	599	42140 9	1759	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	50677 3	600	42135 9	1760	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	50946 4	601	42412 8	1761	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	51116 7	602	42227 7	1762	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	51132 8	603	42176 2	1763	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	51201 7	604	42475 5	1764	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	51256 4	605	42298 5	1765	
AS	JNK3(MAPK 10)	マイトジェン活性化 プロ テインキナーゼ 10	51540 0	606	42415 4	1766	
AS	MAP1	マンナン結合レクチン セ リンペプチターゼ 1 (Ra反 応性因子のC4/C2活性化成 分)	16929 3	607	16929 3	1767	
AS	MAP1	マンナン結合レクチン セ リンペプチターゼ 1 (Ra反 応性因子のC4/C2活性化成 分)	29628 0	608	29628 0	1768	
AS	MAP1	マンナン結合レクチン セ リンペプチターゼ 1 (Ra反 応性因子のC4/C2活性化成 分)	33777 4	609	33679 2	1769	
AS	MAP1	マンナン結合レクチン セ リンペプチターゼ 1 (Ra反 応性因子のC4/C2活性化成 分)	39247 2	610	37626 4	1770	
AS	MAP1	マンナン結合レクチン セ リンペプチターゼ 1 (Ra反 応性因子のC4/C2活性化成 分)	54181 1	611	44044 6	1771	
AS	MAP1	マンナン結合レクチン セ リンペプチターゼ 1 (Ra反 応性因子のC4/C2活性化成 分)	54189 6	612	44624 0	1772	

10

20

30

【表 0006-28】

		分)					
AS	Me1-1	骨髄細胞白血病配列 (BCL2関連)	1	307940	613	309973	1773
AS	Me1-1	骨髄細胞白血病配列 (BCL2関連)	1	369026	614	358022	1774
AS	Me1-1	骨髄細胞白血病配列 (BCL2関連)	1	439749	615	411395	1775
AS	MEK1(MAP2 K1)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 1		215832	616	215832	1776
AS	MEK1(MAP2 K1)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼキナーゼ 1		307102	617	302486	1777
AS	MEK1(MAP2 K1)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 1		415911	618	409149	1778
AS	MEK1(MAP2 K1)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼ 1		544786	619	440842	1779
AS	MEK2(MAP2 K2)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼキナーゼ 2		262948	620	262948	1780
AS	MEK4(MAP2 K4)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼキナーゼ 4		353533	621	262445	1781
AS	MEK4(MAP2 K4)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼキナーゼ 4		415385	622	410402	1782
AS	MEK4(MAP2 K4)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼキナーゼ 4		536413	623	441610	1783
AS	MEK4(MAP2 K4)	マイトジェン活性化 プロテインキナーゼキナーゼ 4		538465	624	444874	1784
AS	MEKK1(MAP3K1)	マイトジェン活性化プロテインキナーゼキナーゼキナーゼ 1		399503	625	382423	1785
AS	NADE(NGFR AP1)	神経成長因子 受容体 (TNFRSF16) 関連タンパク質 1		299872	626	299872	1786
AS	NADE(NGFR AP1)	神経成長因子 受容体 (TNFRSF16) 関連タンパク質 1		361298	627	354843	1787
AS	NADE(NGFR AP1)	神経成長因子 受容体 (TNFRSF16) 関連タンパク質 1		372634	628	361717	1788
AS	NADE(NGFR AP1)	神経成長因子 受容体 (TNFRSF16) 関連タンパク質 1		372635	629	361718	1789

10

20

30

【表 0006-29】

	API)	ク質 1					
AS	NADE (NGFR API)	神経成長因子 受容体 (TNFRSF16) 関連タンパ ク質 1	37264 5	630	36172 8	1790	
AS	NGF	神経成長因子 (ベータポリ ペプチド)	36951 2	631	35852 5	1791	
AS	NGFR	神経成長因子 受容体	17222 9	632	17222 9	1792	
AS	NGFR	神経成長因子 受容体	50420 1	633	42173 1	1793	
AS	NIK (MAP3 K14)	マイトジェン活性化プロテ インキナーゼキナーゼキナ ーゼ 14	34468 6	634	34205 9	1794	
AS	NIK (MAP3 K14)	マイトジェン活性化プロテ インキナーゼキナーゼキナ ーゼ 14	37692 6	635	36612 5	1795	
AS	NOXA	ホルボール-12-ミリス テート-13-アセテート 誘導タンパク質 1	26951 8	636	26951 8	1796	
AS	NOXA	ホルボール-12-ミリス テート-13-アセテート 誘導タンパク質 1	31666 0	637	32611 9	1797	
AS	OX40	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 4	37923 6	638	36853 8	1798	
AS	OX40	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 4	45358 0	639	39090 7	1799	
AS	OX40L (TNFS F4)	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 4	28183 4	640	28183 4	1800	
AS	OX40L (TNFS F4)	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 4	36771 8	641	35669 1	1801	
AS	OX40L (TNFS F4)	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 4	54529 2	642	43970 4	1802	
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	26930 5	643	26930 5	1803	
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	26930 5	644	26930 5	1804	2489
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	35959 7	645	35261 0	1805	
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	39647 3	646	37973 5	1806	
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	41346 5	647	41073 9	1807	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 3 0】

AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	41431 5	648	39419 5	1808	
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	41902 4	649	40213 0	1809	
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	42024 6	650	39112 7	1810	
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	44588 8	651	39147 8	1811	2490
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	45526 3	652	39884 6	1812	
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	50359 1	653	42625 2	1813	
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	50879 3	654	42410 4	1814	
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	50969 0	655	42510 4	1815	
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	51494 4	656	42386 2	1816	
AS	p53	腫瘍タンパク質 p53	54585 8	657	43779 2	1817	
AS	p70 S6 キナーゼ 1	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ, 70kDa, ポリペプ チド 1	22557 7	658	22557 7	1818	
AS	p70 S6 キナーゼ 1	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ, 70kDa, ポリペプ チド 1	39302 1	659	37674 4	1819	
AS	p70 S6 キナーゼ 1	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ, 70kDa, ポリペプ チド 1	40611 6	660	38433 5	1820	
AS	p70 S6 キナーゼ 1	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ, 70kDa, ポリペプ チド 1	44357 2	661	44199 3	1821	
AS	p70 S6 キナーゼ 2	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ, 70kDa, ポリペプ チド 2	31262 9	662	30841 3	1822	
AS	p70 S6 キナーゼ 2	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ, 70kDa, ポリペプ チド 2	52896 4	663	43284 7	1823	
AS	p70 S6 キナーゼ 2	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ, 70kDa, ポリペプ チド 2	53918 8	664	44294 9	1824	
AS	p90Rsk	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ, 90kDa, ポリペプ チド 1	37416 2	665	36327 7	1825	
AS	p90Rsk	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ, 90kDa, ポリペプ チド 1	37416 4	666	36327 9	1826	
AS	p90Rsk	リボソームタンパク質 S6	37416	667	36328	1827	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 3 1】

		キナーゼ, 90kDa, ポリペプチド 1	8		3		
AS	p90Rsk	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ, 90kDa, ポリペプチド 1	40373 2	668	38396 7	1828	
AS	p90Rsk	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ, 90kDa, ポリペプチド 1	53000 3	669	43228 1	1829	
AS	p90Rsk	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ, 90kDa, ポリペプチド 1	53138 2	670	43541 2	1830	
AS	PAK2	p21 タンパク質 (Cdc42/Rac)活性化キナーゼ 2	32713 4	671	31406 7	1831	
AS	PARP-1	ポリ(ADPリボース)ポリメラーゼ1	36679 0	672	35575 5	1832	
AS	PARP-1	ポリ(ADPリボース)ポリメラーゼ1	36679 1	673	35575 6	1833	
AS	PARP-1	ポリ(ADPリボース)ポリメラーゼ1	36679 2	674	35575 7	1834	
AS	PARP-1	ポリ(ADPリボース)ポリメラーゼ1	36679 4	675	35575 9	1835	
AS	PARP-1	ポリ(ADPリボース)ポリメラーゼ1	43233 8	676	41277 4	1836	
AS	PDPK1	3-ホスホイノシチド依存性 プロテインキナーゼ-1	34208 5	677	34422 0	1837	
AS	PDPK1	3-ホスホイノシチド依存性 プロテインキナーゼ-1	35483 6	678	34689 5	1838	
AS	PDPK1	3-ホスホイノシチド依存性 プロテインキナーゼ-1	44154 9	679	39535 7	1839	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナーゼ, 触媒性, アルファポリ ペプチド	26396 7	680	26396 7	1840	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナーゼ, 触媒性, ベータポリ ペプチド	28915 3	681	28915 3	1841	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナーゼ, 触媒性, ガンマポリ ペプチド	35919 5	682	35212 1	1842	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナーゼ, 触媒性, デルタ ポリ ペプチド	36056 3	683	35376 6	1843	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナーゼ, 触媒性, デルタ ポリ ペプチド	36111 0	684	35441 0	1844	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナ	37734	685	36656	1845	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 3 2】

		ーゼ, 触媒性, デルタ ポリ ペプチド	6		3		
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナ ーゼ, 触媒性, ガンマポリペ プチド	44065 0	686	39225 8	1846	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナ ーゼ, 触媒性, ベータポリペ プチド	46145 1	687	42039 9	1847	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナ ーゼ, 触媒性, アルファポリ ペプチド	46803 6	688	41747 9	1848	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナ ーゼ, 触媒性, ベータポリペ プチド	47759 3	689	41814 3	1849	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナ ーゼ, 触媒性, ベータポリペ プチド	48396 8	690	41985 7	1850	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナ ーゼ, 触媒性, ベータポリペ プチド	49356 8	691	41786 9	1851	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナ ーゼ, 触媒性, ガンマポリペ プチド	49616 6	692	41926 0	1852	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナ ーゼ, 触媒性, デルタ ポリ ペプチド	53665 6	693	44644 4	1853	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナ ーゼ, 触媒性, デルタ ポリ ペプチド	54339 0	694	44381 1	1854	
AS	PI3K	ホスホイノシチド-3-キナ ーゼ, 触媒性, ベータポリペ プチド	54471 6	695	43825 9	1855	
AS	PKA- cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, アル ファ	30867 7	696	30959 1	1856	
AS	PKA- cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, アル ファ	35035 6	697	34094 0	1857	
AS	PKA- cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	37067 9	698	35971 3	1858	
AS	PKA- cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	37068 0	699	35971 4	1859	
AS	PKA- cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー	37068 1	700	35971 5	1860	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 3 3】

		タ					
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	37068 2	701	35971 6	1861	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	37068 4	702	35971 8	1862	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	37068 5	703	35971 9	1863	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	37068 8	704	35972 2	1864	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	37068 9	705	35972 3	1865	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ガン マ	37727 6	706	36648 8	1866	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	39483 8	707	37831 4	1867	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	39483 9	708	37831 5	1868	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	41353 8	709	39717 5	1869	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	41753 0	710	39932 6	1870	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	43211 1	711	39227 5	1871	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	43613 3	712	39090 6	1872	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	44653 8	713	40125 2	1873	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, ベー タ	45073 0	714	39365 4	1874	
AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, アル ファ	53569 5	715	44165 4	1875	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 3 4】

AS	PKA-cat	プロテインキナーゼ, cAMP依存性, 触媒性, アルファ	536649	716	440418	1876	
AS	PKC-デルタ	プロテインキナーゼ C, デルタ	330452	717	331602	1877	
AS	PKC-デルタ	プロテインキナーゼ C, デルタ	394729	718	378217	1878	
AS	PKC-デルタ	プロテインキナーゼ C, デルタ	478843	719	419726	1879	
AS	PKC-デルタ	プロテインキナーゼ C, デルタ	487897	720	418106	1880	
AS	PKC-ゼータ	プロテインキナーゼ C, ゼータ	378567	721	367830	1881	
AS	PKC-ゼータ	プロテインキナーゼ C, ゼータ	400920	722	383711	1882	
AS	PKC-ゼータ	プロテインキナーゼ C, ゼータ	400921	723	383712	1883	
AS	PKC-ゼータ	プロテインキナーゼ C, ゼータ	461106	724	426412	1884	
AS	PKC-ゼータ	プロテインキナーゼ C, ゼータ	470511	725	421350	1885	
AS	PKC-ゼータ	プロテインキナーゼ C, ゼータ	470596	726	424228	1886	
AS	PKC-ゼータ	プロテインキナーゼ C, ゼータ	470986	727	421219	1887	
AS	PKC-ゼータ	プロテインキナーゼ C, ゼータ	482686	728	425317	1888	
AS	PKC-ゼータ	プロテインキナーゼ C, ゼータ	496325	729	421869	1889	
AS	PP1-cat アルファ	プロテインホスファターゼ 1, 触媒サブユニット, アルファアイソザイム	312989	730	326031	1890	
AS	PP1-cat アルファ	プロテインホスファターゼ 1, 触媒サブユニット, アルファアイソザイム	376745	731	365936	1891	
AS	PP1-cat アルファ	プロテインホスファターゼ 1, 触媒サブユニット, アルファアイソザイム	451458	732	405603	1892	
AS	PP2a触媒性	プロテインホスファターゼ 2, 触媒サブユニット, アルファアイソザイム	481195	733	418447	1893	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1H	228705	734	228705	1894	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1F	263212	735	263212	1895	
AS	PP2C	プロテインホスファター	28241	736	28241	1896	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 3 5】

		ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1B	2		2		
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1K	29590 8	737	29590 8	1897	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1M	29648 7	738	29648 7	1898	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1D	30592 1	739	30668 2	1899	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1E	30824 9	740	31241 1	1900	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1J	30927 6	741	30892 6	1901	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1K	31519 4	742	32476 1	1902	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1M	32358 8	743	31989 4	1903	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1N (推定)	32468 8	744	32176 1	1904	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1A	32564 2	745	32725 5	1905	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1A	32565 8	746	31485 0	1906	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1G	34403 4	747	34277 8	1907	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1B	34524 9	748	32608 9	1908	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1G	35080 3	749	26471 4	1909	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1J	35999 4	750	35308 8	1910	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1B	37855 1	751	36781 3	1911	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1D	39299 5	752	37672 0	1912	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1A	39507 6	753	37851 4	1913	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1G	39554 3	754	37891 3	1914	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1N (推定)	39673 4	755	37996 0	1915	
AS	PP2C	プロテインホスファター ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1F	39749 5	756	38063 2	1916	
AS	PP2C	プロテインホスファター	40698	757	38471	1917	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 3 6】

		ゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1F	1		5		
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1F	407142	758	384930	1918	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1B	409432	759	387287	1919	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1M	409502	760	387046	1920	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1B	409895	761	387341	1921	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1B	419807	762	390087	1922	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1E	443121	763	390257	1923	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1M	457351	764	393747	1924	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1L	497343	765	420354	1925	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1L	498165	766	417659	1926	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1K	506423	767	424155	1927	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1A	525399	768	435398	1928	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1A	528241	769	431453	1929	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1A	529574	770	432966	1930	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1A	531937	771	435575	1931	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1F	538191	772	439915	1932	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1G	544412	773	442536	1933	
AS	PP2C	プロテインホスファターゼ, Mg2+/Mn2+依存性, 1D	544712	774	438518	1934	
AS	Puma	BCL2結合成分 3	300880	775	300880	1935	
AS	Puma	BCL2結合成分 3	341983	776	341155	1936	
AS	Puma	BCL2結合成分 3	439096	777	395862	1937	
AS	Puma	BCL2結合成分 3	449228	778	404503	1938	
AS	RAIDD	デスドメインを伴う CASP2およびRIPK1ドメ	332896	779	327647	1939	

10

20

30

【表 0006-37】

		イン含有アダプター					
AS	RAIDD	デスドメインを伴う CASP2およびRIPK1ドメ イン含有アダプター	54181 3	780	44262 4	1940	
AS	RAIDD	デスドメインを伴う CASP2およびRIPK1ドメ イン含有アダプター	54289 3	781	43906 8	1941	
AS	RAIDD	デスドメインを伴う CASP2およびRIPK1ドメ イン含有アダプター	55106 5	782	44842 5	1942	
AS	RANK	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 11a, NFκB 活性化因子	26948 5	783	26948 5	1943	
AS	RANK	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 11a, NFκB 活性化因子	38279 0	784	37224 0	1944	
AS	RANK L	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 11	23984 9	785	23984 9	1945	
AS	RANK L	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 11	35854 5	786	35134 7	1946	
AS	RANK L	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 11	39879 5	787	38177 5	1947	
AS	RANK L	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 11	40526 2	788	38404 2	1948	
AS	RANK L	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 11	54486 2	789	44491 3	1949	
AS	ReIA (p65 NF-κ B サブ ユニット)	vrel細網内皮症ウイルス 癌遺伝子相同体 A (鳥類)	30863 9	790	31150 8	1950	
AS	ReIA (p65 NF-κ B サブ ユニット)	vrel細網内皮症ウイルス 癌遺伝子相同体 A (鳥類)	40624 6	791	38427 3	1951	
AS	ReIA (p65 NF-κ B サブ ユニット)	vrel細網内皮症ウイルス 癌遺伝子相同体 A (鳥類)	42661 7	792	43798 0	1952	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 3 8】

	サブユニット)						
AS	ReIA (p65 NF-カ ッパB サブユ ニット)	vrel細網内皮症ウイルス 癌遺伝子相同体 A (鳥類)	52569 3	793	43253 7	1953	
AS	ReIA (p65 NF-カ ッパB サブユ ニット)	vrel細網内皮症ウイルス 癌遺伝子相同体 A (鳥類)	52628 3	794	43529 0	1954	
AS	ReIA (p65 NF-カ ッパB サブユ ニット)	vrel細網内皮症ウイルス 癌遺伝子相同体 A (鳥類)	54581 6	795	44370 0	1955	
AS	RIPK1	受容体 (TNFRSF)-相互作 用セリンスレオニン キナ ーゼ 1	25980 8	796	25980 8	1956	
AS	RIPK1	受容体 (TNFRSF)-相互作 用セリンスレオニン キナ ーゼ 1	38040 9	797	36977 3	1957	
AS	RIPK1	受容体 (TNFRSF)-相互作 用セリンスレオニン キナ ーゼ 1	45348 3	798	41598 1	1958	
AS	RIPK1	受容体 (TNFRSF)-相互作 用セリンスレオニン キナ ーゼ 1	54179 1	799	44229 4	1959	
AS	シーク エスト ゾーム 1 (p62)	シークエストゾーム 1	36071 8	800	35394 4	1960	
AS	シーク エスト ゾーム 1 (p62)	シークエストゾーム 1	37692 9	801	36612 8	1961	
AS	シーク エスト ゾーム 1 (p62)	シークエストゾーム 1	38980 5	802	37445 5	1962	
AS	シーク エスト ゾーム	シークエストゾーム 1	40287 4	803	38555 3	1963	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 3 9】

	1 (p62)						
AS	シーク エスト ソーム 1 (p62)	シークエストソーム 1	42224 5	804	39453 4	1964	
AS	シーク エスト ソーム 1 (p62)	シークエストソーム 1	45437 8	805	40810 7	1965	
AS	シーク エスト ソーム 1 (p62)	シークエストソーム 1	51409 3	806	42730 8	1966	
AS	She	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 2	26455 4	807	26455 4	1967	
AS	She	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 1	36644 2	808	39616 2	1968	
AS	She	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 1	36844 1	809	35742 6	1969	
AS	She	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 1	36844 3	810	35742 8	1970	
AS	She	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 1	36844 5	811	35743 0	1971	
AS	She	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 1	36844 9	812	35743 4	1972	
AS	She	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 1	36845 0	813	35743 5	1973	
AS	She	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 1	36845 3	814	35743 8	1974	
AS	She	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 3	37583 0	815	36499 0	1975	
AS	She	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 3	37583 1	816	36499 1	1976	
AS	She	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 3	37583 5	817	36499 5	1977	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 4 0】

AS	Shc	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 1	412170	818	398441	1978	
AS	Shc	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 1	414115	819	404908	1979	
AS	Shc	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 1	444179	820	398864	1980	
AS	Shc	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 1	444664	821	396333	1981	
AS	Shc	SHC (Srcホモロジー2ドメイン含有) 形質転換タンパク質 1	448116	822	401303	1982	
AS	Siah-1	セブリンインアプセンシア相同体 1 (ショウジョウバエ)	356721	823	349156	1983	
AS	Siah-1	セブリンインアプセンシア相同体 1 (ショウジョウバエ)	380006	824	369343	1984	
AS	Siah-1	セブリンインアプセンシア相同体 1 (ショウジョウバエ)	394725	825	378214	1985	
AS	SMAC	diablo, IAP結合ミトコンドリアタンパク質	NA	826	NA	1986	
AS	Smac/Diablo	diablo, IAP結合ミトコンドリアタンパク質	267169	827	267169	1987	
AS	Smac/Diablo	diablo, IAP結合ミトコンドリアタンパク質	353548	828	320343	1988	
AS	Smac/Diablo	diablo, IAP結合ミトコンドリアタンパク質	413918	829	411638	1989	
AS	Smac/Diablo	diablo, IAP結合ミトコンドリアタンパク質	443649	830	398495	1990	
AS	Smac/Diablo	diablo, IAP結合ミトコンドリアタンパク質	464942	831	442360	1991	
AS	SODD	BCL2関連アタノ遺伝子 (athanogene) 4	287322	832	287322	1992	
AS	SODD	BCL2関連アタノ遺伝子 (athanogene) 4	432471	833	393298	1993	
AS	SOS	セブリンレスの息子 (son of sevenless) 相同体 2 (ショウジョウバエ)	216373	834	216373	1994	
AS	SOS	セブリンレスの息子相同体 1 (ショウジョウバエ)	263879	835	263879	1995	
AS	SOS	セブリンレスの息子相同体 1 (ショウジョウバエ)	395038	836	378479	1996	
AS	SOS	セブリンレスの息子相同体 1 (ショウジョウバエ)	402219	837	384675	1997	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 4 1】

AS	SOS	セブレンレスの息子相同体 1 (ショウジョウバエ)	42601 6	838	38778 4	1998	
AS	SOS	セブレンレスの息子相同体 1 (ショウジョウバエ)	42872 1	839	39999 2	1999	
AS	SOS	セブレンレスの息子相同体 2 (ショウジョウバエ)	54368 0	840	44532 8	2000	
AS	SOS	セブレンレスの息子相同体 1 (ショウジョウバエ)	54369 8	841	44117 2	2001	
AS	SUMO -1	SMT3 mif 2の抑制因子3 相同体 1 (S. セレピシエ)	39224 4	842	37607 5	2002	
AS	SUMO -1	SMT3 mif 2の抑制因子3 相同体 1 (S. セレピシエ)	39224 5	843	37607 6	2003	
AS	SUMO -1	SMT3 mif 2の抑制因子3 相同体 1 (S. セレピシエ)	39224 6	844	37607 7	2004	
AS	SUMO -1	SMT3 mif 2の抑制因子3 相同体 1 (S. セレピシエ)	40920 5	845	38626 7	2005	
AS	SUMO -1	SMT3 mif 2の抑制因子3 相同体 1 (S. セレピシエ)	40949 8	846	38647 2	2006	
AS	Survivi n	バキュロウイルスIAP繰り 返し配列含有 5	30163 3	847	30163 3	2007	
AS	Survivi n	バキュロウイルスIAP繰り 返し配列含有 5	35005 1	848	32418 0	2008	
AS	Survivi n	バキュロウイルスIAP繰り 返し配列含有 5	37494 8	849	36408 6	2009	
AS	Survivi n	バキュロウイルスIAP繰り 返し配列含有 5	43201 4	850	38908 8	2010	
AS	TACI	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 13B	26165 2	851	26165 2	2011	
AS	TACI	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 13B	43753 8	852	41345 3	2012	
AS	tBid	tBID	NA		NA	2013	
AS	TL1A	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 15	37404 4	853	36315 6	2014	
AS	TL1A	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メン バー 15	37404 5	854	36315 7	2015	
AS	TNF- アルフ ア	腫瘍壊死因子	37612 2	855	36529 0	2016	
AS	TNF- アルフ ア	腫瘍壊死因子	38349 6	856	37298 8	2017	
AS	TNF- アルフ ア	腫瘍壊死因子	41227 5	857	39285 8	2018	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 4 2】

	ア						
AS	TNF- アルフ ア	腫瘍壊死因子	42042 5	858	41066 8	2019	
AS	TNF- アルフ ア	腫瘍壊死因子	44370 7	859	38949 2	2020	
AS	TNF- アルフ ア	腫瘍壊死因子	44523 2	860	38926 5	2021	
AS	TNF- アルフ ア	腫瘍壊死因子	44878 1	861	38949 0	2022	
AS	TNF- アルフ ア	腫瘍壊死因子	44926 4	862	39869 8	2023	
AS	TNF- R1	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 1A	16274 9	863	16274 9	2024	
AS	TNF- R1	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 1A	36615 9	864	38038 9	2025	
AS	TNF- R2	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 1B	37625 9	865	36543 5	2026	
AS	TNF- R2	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 1B	37625 9	866	36543 5	2027	2491
AS	TNF- R2	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 1B	40086 3	867	38366 0	2028	
AS	TNF- R2	腫瘍壊死因子 受容体 スー パーファミリー, メンバー 1B	53678 2	868	44042 5	2029	
AS	TRAD D	死領域を介した TNFRSF1A-関連	34505 7	869	34126 8	2030	
AS	TRAF2	TNF 受容体-関連因子2	24766 8	870	24766 8	2031	
AS	TRAF2	TNF 受容体-関連因子2	35966 2	871	35268 5	2032	
AS	TRAF2	TNF 受容体-関連因子2	37164 5	872	36070 8	2033	
AS	TRAF2	TNF 受容体-関連因子2	41458 9	873	39765 3	2034	
AS	TRAF2	TNF 受容体-関連因子2	41905 7	874	40586 0	2035	
AS	TRAF2	TNF 受容体-関連因子2	42950 9	875	40652 4	2036	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 4 3】

AS	TRAF2	TNF 受容体-関連因子2	43278 5	876	40006 1	2037	
AS	TRAF2	TNF 受容体-関連因子2	53646 8	877	44641 4	2038	
AS	TRAF3	TNF 受容体-関連因子3	34766 2	878	32800 3	2039	
AS	TRAF3	TNF 受容体-関連因子3	35169 1	879	33246 8	2040	
AS	TRAF3	TNF 受容体-関連因子3	39274 5	880	37650 0	2041	
AS	TRAF3	TNF 受容体-関連因子3	53972 1	881	44599 8	2042	
AS	TRAF3	TNF 受容体-関連因子3	56037 1	882	45420 7	2043	
AS	TRAF3	TNF 受容体-関連因子3	56046 3	883	45362 3	2044	
AS	TRAF5	TNF 受容体-関連因子5	26146 4	884	26146 4	2045	
AS	TRAF5	TNF 受容体-関連因子5	33618 4	885	33682 5	2046	
AS	TRAF5	TNF 受容体-関連因子5	36700 4	886	35597 1	2047	
AS	TRAF5	TNF 受容体-関連因子5	42792 5	887	38989 1	2048	
AS	TRAF6	TNF 受容体-関連因子6	34812 4	888	33785 3	2049	
AS	TRAF6	TNF 受容体-関連因子6	52699 5	889	43362 3	2050	
AS	TrkA	神経栄養チロシンキナーゼ, 受容体, 1型	36819 6	890	35717 9	2051	
AS	TrkA	神経栄養チロシンキナーゼ, 受容体, 1型	39230 2	891	37612 0	2052	
AS	TrkA	神経栄養チロシンキナーゼ, 受容体, 1型	52437 7	892	43141 8	2053	
AS	TWEAK(TNFSF12)	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メンバー 12	29382 5	893	29382 5	2054	
AS	TWEAK(TNFSF12)	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー, メンバー 12	55723 3	894	45145 1	2055	
AS	VDAC 1	電位依存性アニオンチャネル 1	26533 3	895	26533 3	2056	
AS	VDAC 1	電位依存性アニオンチャネル 1	39504 4	896	37848 4	2057	
AS	VDAC 1	電位依存性アニオンチャネル 1	39504 7	897	37848 7	2058	
AS	VDAC 2	電位依存性アニオンチャネル 2	29846 8	898	29846 8	2059	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 4 4】

AS	VDAC 2	電位依存性アニオンチャネ ル 2	31313 2	899	36163 5	2060	
AS	VDAC 2	電位依存性アニオンチャネ ル 2	33221 1	900	36168 6	2061	
AS	VDAC 2	電位依存性アニオンチャネ ル 2	34403 6	901	34487 6	2062	
AS	VDAC 2	電位依存性アニオンチャネ ル 2	41328 9	902	38955 1	2063	
AS	VDAC 2	電位依存性アニオンチャネ ル 2	44767 7	903	40149 2	2064	
AS	VDAC 2	電位依存性アニオンチャネ ル 2	53555 3	904	44590 1	2065	
AS	VDAC 2	電位依存性アニオンチャネ ル 2	54335 1	905	44309 2	2066	
AS	XIAP	X連鎖アポトーシス阻害剤	35564 0	906	34785 8	2067	
AS	XIAP	X連鎖アポトーシス阻害剤	37119 9	907	36024 2	2068	
AS	XIAP	X連鎖アポトーシス阻害剤	43062 5	908	40063 7	2069	
AS	XIAP	X連鎖アポトーシス阻害剤	43475 3	909	39523 0	2070	
AS	XIAP	X連鎖アポトーシス阻害剤	NA	910	NA	2071	
CC/S	ATM	血管拡張性失調症変異	27861 6	911	27861 6	2072	
CC/S	ATM	血管拡張性失調症変異	38951 1	912	37416 2	2073	
CC/S	ATM	血管拡張性失調症変異	45250 8	913	38805 8	2074	
CC/S	ATM	血管拡張性失調症変異	53293 1	914	43231 8	2075	
CC/S	ATR	血管拡張性失調症および Rad3関連	35072 1	915	34374 1	2076	
CC/S	ATR	血管拡張性失調症および Rad3関連	38310 1	916	37258 1	2077	
CC/S	ATRIP	ATR 相互作用タンパク質	32021 1	917	32309 9	2078	
CC/S	ATRIP	ATR 相互作用タンパク質	34669 1	918	30233 8	2079	
CC/S	ATRIP	ATR 相互作用タンパク質	35710 5	919	34962 0	2080	
CC/S	ATRIP	ATR 相互作用タンパク質	41205 2	920	40093 0	2081	
CC/S	ATRIP	ATR 相互作用タンパク質	42117 5	921	40666 4	2082	
CC/S	Bard1	BRCA1関連RINGドメイ ン1	26094 7	922	26094 7	2083	
CC/S	Bard1	BRCA1関連RINGドメイ	44996	923	40675	2084	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 4 5】

		ン1	7		2		
CC/S	BLM	ブルーム症候群, RecQ ヘ リカーゼ様	35511 2	924	34723 2	2085	
CC/S	BLM	ブルーム症候群, RecQ ヘ リカーゼ様	53692 5	925	44233 0	2086	
CC/S	BLM	ブルーム症候群, RecQ ヘ リカーゼ様	54397 7	926	43907 5	2087	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	30948 6	927	31093 8	2088	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	34631 5	928	24690 7	2089	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	35166 6	929	33800 7	2090	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	35299 3	930	31223 6	2091	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	35407 1	931	32600 2	2092	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	35765 4	932	35028 3	2093	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	39369 1	933	37729 4	2094	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	41206 1	934	39714 5	2095	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	46122 1	935	41854 8	2096	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	46179 8	936	41798 8	2097	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	46830 0	937	41714 8	2098	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	47002 6	938	41927 4	2099	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	47118 1	939	41896 0	2100	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	47677 7	940	41755 4	2101	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	47715 2	941	41998 8	2102	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	47853 1	942	42041 2	2103	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	48408 7	943	41948 1	2104	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	48903 7	944	42078 1	2105	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	49174 7	945	42070 5	2106	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	49285 9	946	42025 3	2107	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	49379 5	947	41877 5	2108	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 4 6】

CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	49391 9	948	41881 9	2109	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	49412 3	949	41910 3	2110	
CC/S	Brcal	乳癌1, 早期発症	49748 8	950	41898 6	2111	
CC/S	c-Abl	c-abl癌遺伝子1, 非受容体 チロシンキナーゼ	31856 0	951	32331 5	2112	
CC/S	c-Abl	c-abl癌遺伝子1, 非受容体 チロシンキナーゼ	37234 8	952	36142 3	2113	
CC/S	c-Abl	c-abl癌遺伝子1, 非受容体 チロシンキナーゼ	39329 3	953	37697 1	2114	
CC/S	c-Abl	c-abl癌遺伝子1, 非受容体 チロシンキナーゼ	43842 6	954	40775 6	2115	
CC/S	c-Abl	c-abl癌遺伝子1, 非受容体 チロシンキナーゼ	44497 0	955	40041 2	2116	
CC/S	CDC25 A	細胞分裂周期25 相同体 A (S. ポンベ(pombe))	30250 6	956	30370 6	2117	
CC/S	CDC25 A	細胞分裂周期25 相同体 A (S. ポンベ)	35123 1	957	34316 6	2118	
CC/S	CDC25 A	細胞分裂周期25 相同体 A (S. ポンベ)	43797 2	958	40428 5	2119	
CC/S	CDC25 B	細胞分裂周期25 相同体 B (S. ポンベ)	24596 0	959	24596 0	2120	
CC/S	CDC25 B	細胞分裂周期25 相同体 B (S. ポンベ)	34083 3	960	33917 0	2121	
CC/S	CDC25 B	細胞分裂周期25 相同体 B (S. ポンベ)	34425 6	961	33912 5	2122	
CC/S	CDC25 B	細胞分裂周期25 相同体 B (S. ポンベ)	37959 8	962	36891 8	2123	
CC/S	CDC25 B	細胞分裂周期25 相同体 B (S. ポンベ)	43988 0	963	40597 2	2124	
CC/S	CDC25 C	細胞分裂周期25 相同体 C (S. ポンベ)	32376 0	964	32165 6	2125	
CC/S	CDC25 C	細胞分裂周期25 相同体 C (S. ポンベ)	34898 3	965	34520 5	2126	
CC/S	CDC25 C	細胞分裂周期25 相同体 C (S. ポンベ)	35650 5	966	34889 8	2127	
CC/S	CDC25 C	細胞分裂周期25 相同体 C (S. ポンベ)	35727 4	967	34982 1	2128	
CC/S	CDC25 C	細胞分裂周期25 相同体 C (S. ポンベ)	41513 0	968	39263 1	2129	
CC/S	CDC25 C	細胞分裂周期25 相同体 C (S. ポンベ)	50302 2	969	42725 1	2130	
CC/S	CDC25 C	細胞分裂周期25 相同体 C (S. ポンベ)	51397 0	970	42479 5	2131	
CC/S	CDC25	細胞分裂周期25 相同体 C	53489	971	44319	2132	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 4 7】

	C	(S. ポンペ)	2		6		
CC/S	CDK2	サイクリン依存性キナーゼ 2	26697 0	972	26697 0	2133	
CC/S	CDK2	サイクリン依存性キナーゼ 2	35405 6	973	24306 7	2134	
CC/S	CDK4	サイクリン依存性キナーゼ 4	25790 4	974	25790 4	2135	
CC/S	CDK4	サイクリン依存性キナーゼ 4	31299 0	975	31688 9	2136	
CC/S	CDK4	サイクリン依存性キナーゼ 4	54032 5	976	43907 6	2137	
CC/S	CDK4	サイクリン依存性キナーゼ 4	55225 4	977	44917 9	2138	
CC/S	CDK4	サイクリン依存性キナーゼ 4	55238 8	978	44896 3	2139	
CC/S	CDK4	サイクリン依存性キナーゼ 4	55286 2	979	44676 3	2140	
CC/S	CDK6	サイクリン依存性キナーゼ 6	26573 4	980	26573 4	2141	
CC/S	CDK6	サイクリン依存性キナーゼ 6	42484 8	981	39708 7	2142	
CC/S	Chk1	チェックポイントキナーゼ 1	27891 6	982	27891 6	2143	
CC/S	Chk1	チェックポイントキナーゼ 1	42883 0	983	41250 4	2144	
CC/S	Chk1	チェックポイントキナーゼ 1	43801 5	984	38864 8	2145	
CC/S	Chk1	チェックポイントキナーゼ 1	52473 7	985	43289 0	2146	
CC/S	Chk1	チェックポイントキナーゼ 1	52539 6	986	43414 1	2147	
CC/S	Chk1	チェックポイントキナーゼ 1	52693 7	987	43181 5	2148	
CC/S	Chk1	チェックポイントキナーゼ 1	52701 3	988	43152 5	2149	
CC/S	Chk1	チェックポイントキナーゼ 1	53407 0	989	43537 1	2150	
CC/S	Chk1	チェックポイントキナーゼ 1	53468 5	990	43247 0	2151	
CC/S	Chk1	チェックポイントキナーゼ 1	54437 3	991	44231 7	2152	
CC/S	Chk2	チェックポイントキナーゼ 2	32835 4	992	32917 8	2153	
CC/S	Chk2	チェックポイントキナーゼ 2	34829 5	993	32901 2	2154	
CC/S	Chk2	チェックポイントキナーゼ 2	38256 3	994	37200 3	2155	
CC/S	Chk2	チェックポイントキナーゼ	38256	995	37200	2156	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 4 8】

		2	5		6		
CC/S	Chk2	チェックポイントキナーゼ 2	38256 6	996	37200 7	2157	
CC/S	Chk2	チェックポイントキナーゼ 2	38257 8	997	37202 1	2158	
CC/S	Chk2	チェックポイントキナーゼ 2	38258 0	998	37202 3	2159	
CC/S	Chk2	チェックポイントキナーゼ 2	40273 1	999	38483 5	2160	
CC/S	Chk2	チェックポイントキナーゼ 2	40364 2	1000	38491 9	2161	
CC/S	Chk2	チェックポイントキナーゼ 2	40427 6	1001	38574 7	2162	
CC/S	Chk2	チェックポイントキナーゼ 2	40559 8	1002	38608 7	2163	
CC/S	Chk2	チェックポイントキナーゼ 2	54477 2	1003	44245 8	2164	
CC/S	クラス ピン	クラスピン	25119 5	1004	25119 5	2165	
CC/S	クラス ピン	クラスピン	31812 1	1005	31299 5	2166	
CC/S	クラス ピン	クラスピン	37322 0	1006	36231 7	2167	
CC/S	クラス ピン	クラスピン	54435 6	1007	44233 5	2168	
CC/S	サイク リンA	サイクリンA2	27402 6	1008	27402 6	2169	
CC/S	サイク リンB	サイクリンB1	25644 2	1009	25644 2	2170	
CC/S	サイク リンB	サイクリンB3	27601 4	1010	27601 4	2171	
CC/S	サイク リンB	サイクリンB2	28820 7	1011	28820 7	2172	
CC/S	サイク リンB	サイクリンB3	34860 3	1012	33868 2	2173	
CC/S	サイク リンB	サイクリンB3	37603 8	1013	36520 6	2174	
CC/S	サイク リンB	サイクリンB3	37604 2	1014	36521 0	2175	
CC/S	サイク リンB	サイクリンB3	39654 0	1015	37979 0	2176	
CC/S	サイク リンB	サイクリンB1	50550 0	1016	42458 8	2177	
CC/S	サイク リンB	サイクリンB1	50657 2	1017	42338 7	2178	
CC/S	サイク リンD	サイクリンD1	22750 7	1018	22750 7	2179	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 4 9】

CC/S	サイクリンD	サイクリンD2	261254	1019	261254	2180	
CC/S	サイクリンD	サイクリンD3	372987	1020	362078	2181	
CC/S	サイクリンD	サイクリンD3	372988	1021	362079	2182	
CC/S	サイクリンD	サイクリンD3	372991	1022	362082	2183	
CC/S	サイクリンD	サイクリンD3	414200	1023	397545	2184	
CC/S	サイクリンD	サイクリンD3	415497	1024	401595	2185	
CC/S	サイクリンD	サイクリンD3	505064	1025	425830	2186	
CC/S	サイクリンD	サイクリンD3	511642	1026	426212	2187	
CC/S	サイクリンD	サイクリンD1	542897	1027	441863	2188	
CC/S	サイクリンE	サイクリンE1	262643	1028	262643	2189	
CC/S	サイクリンE	サイクリンE2	308108	1029	309181	2190	
CC/S	サイクリンE	サイクリンE1	357943	1030	350625	2191	
CC/S	サイクリンE	サイクリンE2	396133	1031	379437	2192	
CC/S	サイクリンE	サイクリンE1	444983	1032	410179	2193	
CC/S	サイクリンE	サイクリンE2	520509	1033	429089	2194	
CC/S	サイクリンE	サイクリンE2	542725	1034	445726	2195	
CC/S	DNA-PK	プロテインキナーゼ, DNA活性化, 触媒性 ポリペプチド	314191	1035	313420	2196	
CC/S	DNA-PK	プロテインキナーゼ, DNA活性化, 触媒性 ポリペプチド	338368	1036	345182	2197	
CC/S	E2F1/2/3/4/5/6	E2F転写因子5, p130結合	256117	1037	256117	2198	
CC/S	E2F1/2/3/4/5/6	E2F転写因子6	307236	1038	302159	2199	
CC/S	E2F1/2/3/4/5/6	E2F転写因子1	343380	1039	345571	2200	
CC/S	E2F1/2/3/4/5/6	E2F転写因子3	346618	1040	262904	2201	
CC/S	E2F1/2	E2F転写因子2	36172	1041	35524	2202	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 5 0】

	/3/4/5/6		9		9		
CC/S	E2F1/2 /3/4/5/6	E2F転写因子6	36200 9	1042	35503 6	2203	
CC/S	E2F1/2 /3/4/5/6	E2F転写因子3	37864 6	1043	36791 4	2204	
CC/S	E2F1/2 /3/4/5/6	E2F転写因子4, p107/p130 結合	37937 8	1044	36868 6	2205	
CC/S	E2F1/2 /3/4/5/6	E2F転写因子6	38152 5	1045	37093 6	2206	
CC/S	E2F1/2 /3/4/5/6	E2F転写因子5, p130結合	41627 4	1046	39812 4	2207	
CC/S	E2F1/2 /3/4/5/6	E2F転写因子5, p130結合	41893 0	1047	41431 2	2208	
CC/S	E2F1/2 /3/4/5/6	E2F転写因子5, p130結合	51747 6	1048	42912 0	2209	
CC/S	E2F1/2 /3/4/5/6	E2F転写因子5, p130結合	51823 4	1049	42966 9	2210	
CC/S	E2F1/2 /3/4/5/6	E2F転写因子3	53543 2	1050	44341 8	2211	
CC/S	E2F1/2 /3/4/5/6	E2F転写因子6	54210 0	1051	44631 5	2212	
CC/S	E2F1/2 /3/4/5/6	E2F転写因子6	54621 2	1052	43886 4	2213	
CC/S	FANC D2	ファンconi貧血,相補群 D2	28764 7	1053	28764 7	2214	
CC/S	FANC D2	ファンconi貧血,相補群 D2	38380 6	1054	37331 7	2215	
CC/S	FANC D2	ファンconi貧血,相補群 D2	38380 7	1055	37331 8	2216	
CC/S	FANC D2	ファンconi貧血,相補群 D2	41958 5	1056	39875 4	2217	
CC/S	FANC L	ファンconi貧血,相補群 L	23374 1	1057	23374 1	2218	
CC/S	FANC L	ファンconi貧血,相補群 L	54064 6	1058	44143 1	2219	
CC/S	GADD 45 アル ファ	成長停止およびDNA損傷 誘導, アルファ	37098 6	1059	36002 5	2220	
CC/S	GADD 45 ベー タ	成長停止およびDNA損傷 誘導, ベータ	21563 1	1060	21563 1	2221	
CC/S	GADD 45 ベー タ	成長停止およびDNA損傷 誘導, アルファ	37098 5	1061	36002 4	2222	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	25814 8	1062	25814 8	2223	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	25814 9	1063	25814 9	2224	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク	29925	1064	29925	2225	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 5 1】

		質相同体 (マウス)	2		2		
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	31142 0	1065	31074 2	2226	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	31144 0	1066	31130 2	2227	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	34880 1	1067	33509 6	2228	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	35005 7	1068	26662 4	2229	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	35629 0	1069	34863 7	2230	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	35848 3	1070	35127 0	2231	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	36043 0	1071	35361 1	2232	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	39341 0	1072	37706 2	2233	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	39341 2	1073	37706 4	2234	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	39341 3	1074	37706 5	2235	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	39341 5	1075	37706 7	2236	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	42886 3	1076	41069 4	2237	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	46228 4	1077	41728 1	2238	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	51785 2	1078	43025 7	2239	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	53947 9	1079	44443 0	2240	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	54082 7	1080	44093 2	2241	
CC/S	MDM2	Mdm2 p53 結合タンパク 質相同体 (マウス)	54464 8	1081	44327 4	2242	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	37640 5	1082	36558 7	2243	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	37640 6	1083	36558 8	2244	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	38356 6	1084	37306 0	2245	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	41239 5	1085	39283 3	2246	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	41397 3	1086	40883 1	2247	
CC/S	NFBD	DNA損傷チェックポイン	41636	1087	41038	2248	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 5 2】

	1	ト1媒介因子	8		3		
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	41657 1	1088	40097 9	2249	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	41703 3	1089	40896 2	2250	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	41722 8	1090	40030 5	2251	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	41917 2	1091	39847 4	2252	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	41967 5	1092	39764 2	2253	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42001 9	1093	39648 4	2254	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42032 0	1094	41651 1	2255	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42210 4	1095	39037 5	2256	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42219 5	1096	40770 3	2257	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42226 6	1097	41131 0	2258	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42372 6	1098	39123 0	2259	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42443 7	1099	39815 1	2260	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42450 7	1100	38835 5	2261	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42463 8	1101	39407 4	2262	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42502 9	1102	39712 6	2263	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42507 2	1103	39698 9	2264	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42579 0	1104	39702 1	2265	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42740 6	1105	38742 9	2266	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	42961 0	1106	40685 0	2267	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	43035 8	1107	41416 3	2268	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	43144 1	1108	39278 4	2269	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	43299 8	1109	40599 1	2270	
CC/S	NFBD	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	43566	1110	40431	2271	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 5 3】

	1	ト1媒介因子	4		8		
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	43579 7	1111	40067 7	2272	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	43775 9	1112	38774 3	2273	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	43816 5	1113	38770 6	2274	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	44036 9	1114	41521 2	2275	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	44139 7	1115	39048 9	2276	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	44441 2	1116	41361 0	2277	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	44513 0	1117	39612 4	2278	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	44576 4	1118	39388 6	2279	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	44719 2	1119	40580 6	2280	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	44764 0	1120	39638 9	2281	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	44889 5	1121	39612 1	2282	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	44915 3	1122	40916 7	2283	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	45003 3	1123	39004 0	2284	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	45221 3	1124	40493 6	2285	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	45572 9	1125	40495 4	2286	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	45658 9	1126	40535 0	2287	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54648 7	1127	44867 9	2288	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54653 9	1128	44823 2	2289	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54704 7	1129	44905 9	2290	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54735 3	1130	44788 3	2291	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54768 1	1131	44785 1	2292	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54770 0	1132	44908 3	2293	
CC/S	NFBD	DNA損傷チェックポイント	54787	1133	44768	2294	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 5 4】

	1	ト1媒介因子	4		2		
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54810 3	1134	44949 9	2295	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54811 2	1135	44843 4	2296	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54824 8	1136	44808 0	2297	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54843 3	1137	44997 1	2298	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54854 2	1138	44659 7	2299	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54880 5	1139	44692 4	2300	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54882 7	1140	44920 1	2301	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54889 3	1141	44794 3	2302	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54894 7	1142	44771 1	2303	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54922 8	1143	44751 7	2304	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54938 2	1144	44917 7	2305	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54942 8	1145	44703 8	2306	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	54977 1	1146	44881 2	2307	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	55000 4	1147	44708 4	2308	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	55011 0	1148	44698 0	2309	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	55021 0	1149	44769 7	2310	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	55040 8	1150	44713 6	2311	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	55050 0	1151	45000 2	2312	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	55068 8	1152	44806 6	2313	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	55120 4	1153	44779 9	2314	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	55126 7	1154	45019 8	2315	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	55146 0	1155	44927 4	2316	
CC/S	NFBD	DNA損傷チェックポイント1媒介因子	55155	1156	44853	2317	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 5 5】

	1	ト1媒介因子	4		8		
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	55162 1	1157	44828 5	2318	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	55174 0	1158	45003 7	2319	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	55226 3	1159	44706 9	2320	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	55234 9	1160	44989 2	2321	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	55247 4	1161	44777 1	2322	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	55252 2	1162	44993 6	2323	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	55277 6	1163	44782 5	2324	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	55304 7	1164	44724 7	2325	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	55304 8	1165	44778 7	2326	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	55313 0	1166	44680 9	2327	
CC/S	NFBD 1	DNA損傷チェックポイン ト1媒介因子	55319 6	1167	44958 6	2328	
CC/S	ニブリ ン	ニブリン	26543 3	1168	26543 3	2329	
CC/S	ニブリ ン	ニブリン	45238 7	1169	44521 3	2330	
CC/S	p107	網膜芽細胞腫様1 (p107)	34435 9	1170	34364 6	2331	
CC/S	p107	網膜芽細胞腫様1 (p107)	37366 4	1171	36276 8	2332	
CC/S	p130	網膜芽細胞腫様2 (p130)	26213 3	1172	26213 3	2333	
CC/S	p130	網膜芽細胞腫様2 (p130)	37993 5	1173	36926 7	2334	
CC/S	p130	網膜芽細胞腫様2 (p130)	54440 5	1174	44374 4	2335	
CC/S	p130	網膜芽細胞腫様2 (p130)	54454 5	1175	44468 5	2336	
CC/S	p21	P21	NA	1176	NA	2337	
CC/S	PCNA	増殖性細胞核抗原	37914 3	1177	36843 8	2338	
CC/S	PCNA	増殖性細胞核抗原	37916 0	1178	36845 8	2339	
CC/S	RAD9	RAD9 相同体 A (S. ポンペ)	30798 0	1179	31136 0	2340	
CC/S	Rb	網膜芽細胞腫1	26716	1180	26716	2341	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 5 6】

	protein		3		3		
CC/S	Rb protein	網膜芽細胞腫1	467505	1181	434702	2342	
CC/S	Rb protein	網膜芽細胞腫1	542917	1182	437642	2343	
CC/S	SMC1	染色体1Aの構造維持	322213	1183	323421	2344	
CC/S	SMC1	染色体1Aの構造維持	340213	1184	344906	2345	
CC/S	SMC1	染色体1Aの構造維持	375340	1185	364489	2346	
CC/S	SMC1	染色体1Aの構造維持	428014	1186	413509	2347	
CC/S	USP1	ユビキチン特異的ペプチダーゼ1	339950	1187	343526	2348	
CC/S	USP1	ユビキチン特異的ペプチダーゼ1	371146	1188	360188	2349	
CC/S	USP1	ユビキチン特異的ペプチダーゼ1	452143	1189	403662	2350	
M	4EBP-1	真核細胞翻訳開始因子4E結合タンパク質1	338825	1190	340691	2351	
M	ARNT	アリール炭化水素受容体核輸送体	354396	1191	346372	2352	
M	ARNT	アリール炭化水素受容体核輸送体	358595	1192	351407	2353	
M	ARNT	アリール炭化水素受容体核輸送体	368975	1193	357971	2354	
M	ARNT	アリール炭化水素受容体核輸送体	394700	1194	378190	2355	
M	ARNT	アリール炭化水素受容体核輸送体	471844	1195	425899	2356	
M	ARNT	アリール炭化水素受容体核輸送体	505755	1196	427571	2357	
M	ARNT	アリール炭化水素受容体核輸送体	515192	1197	423851	2358	
M	CAIX	炭酸脱水酵素IX	378357	1198	367608	2359	
M	CAIX	炭酸脱水酵素IX	544074	1199	438541	2360	
M	CBP	CREB結合タンパク質	262367	1200	262367	2361	
M	CBP	CREB結合タンパク質	323508	1201	323550	2362	
M	CBP	CREB結合タンパク質	382070	1202	371502	2363	
M	CBP	CREB結合タンパク質	543883	1203	441978	2364	
M	CITED	Cbp/p300相互作用トラン	24613	1204	24613	2365	

10

20

30

【表 0006-57】

	1	ス活性化因子, Glu/Asp リ ッチカルボキシ末端ドメイ ン有, 1	9		9		
M	CITED 1	Cbp/p300相互作用トラン ス活性化因子, Glu/Asp リ ッチカルボキシ末端ドメイ ン有, 1	37361 9	1205	36272 1	2366	
M	CITED 1	Cbp/p300相互作用トラン ス活性化因子, Glu/Asp リ ッチカルボキシ末端ドメイ ン有, 1	41740 0	1206	41478 1	2367	
M	CITED 1	Cbp/p300相互作用トラン ス活性化因子, Glu/Asp リ ッチカルボキシ末端ドメイ ン有, 1	42741 2	1207	39140 7	2368	
M	CITED 1	Cbp/p300相互作用トラン ス活性化因子, Glu/Asp リ ッチカルボキシ末端ドメイ ン有, 1	42979 4	1208	40749 6	2369	
M	CITED 1	Cbp/p300相互作用トラン ス活性化因子, Glu/Asp リ ッチカルボキシ末端ドメイ ン有, 1	43138 1	1209	38854 8	2370	
M	CITED 1	Cbp/p300相互作用トラン ス活性化因子, Glu/Asp リ ッチカルボキシ末端ドメイ ン有, 1	44598 3	1210	40327 4	2371	
M	CITED 1	Cbp/p300相互作用トラン ス活性化因子, Glu/Asp リ ッチカルボキシ末端ドメイ ン有, 1	45087 5	1211	40576 5	2372	
M	CITED 1	Cbp/p300相互作用トラン ス活性化因子, Glu/Asp リ ッチカルボキシ末端ドメイ ン有, 1	45370 7	1212	40176 4	2373	
M	CITED 2	Cbp/p300相互作用トラン ス活性化因子, Glu/Asp リ ッチカルボキシ末端ドメイ ン有, 2	36765 1	1213	35662 3	2374	
M	CITED 2	Cbp/p300相互作用トラン ス活性化因子, Glu/Asp リ ッチカルボキシ末端ドメイ ン有, 2	39231 2	1214	37612 6	2375	
M	CITED 2	Cbp/p300相互作用トラン ス活性化因子, Glu/Asp リ ッチカルボキシ末端ドメイ ン有, 2	53615 9	1215	44283 1	2376	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 5 8】

M	CITED 2	Cbp/p300相互作用トランス活性化因子, Glu/Aspリッチカルボキシ末端ドメイン有, 2	53733 2	1216	44419 8	2377	
M	CITED 4	Cbp/p300相互作用トランス活性化因子, Glu/Aspリッチカルボキシ末端ドメイン有, 4	NA	1217	NA	2378	
M	CITED 4	Cbp/p300相互作用トランス活性化因子, Glu/Aspリッチカルボキシ末端ドメイン有, 4 (EDリッチ尾部を有するCBP/p300相互作用トランス活性化因子)	37263 8	1218	36172 1	2379	
M	COMM D1	銅代謝(Murr1)ドメイン含有1	31183 2	1219	30823 6	2380	
M	COMM D1	銅代謝(Murr1)ドメイン含有1	42741 7	1220	41320 7	2381	
M	COMM D1	銅代謝(Murr1)ドメイン含有1	44416 6	1221	41005 0	2382	
M	COMM D1	銅代謝(Murr1)ドメイン含有1	45833 7	1222	40123 6	2383	
M	COMM D1	銅代謝(Murr1)ドメイン含有1	53873 6	1223	43896 1	2384	
M	CREB	cAMP応答配列結合タンパク質1	23699 6	1224	23699 6	2385	
M	CREB	cAMP応答配列結合タンパク質1	35326 7	1225	23699 5	2386	
M	CREB	cAMP responsive element 結合タンパク質3	35370 4	1226	34213 6	2387	
M	CREB	cAMP応答配列結合タンパク質1	37439 7	1227	36351 8	2388	
M	CREB	cAMP応答配列結合タンパク質1	43062 4	1228	40553 9	2389	
M	CREB	cAMP応答配列結合タンパク質1	43232 9	1229	38769 9	2390	
M	CREB	cAMP応答配列結合タンパク質1	44580 3	1230	40722 7	2391	
M	CREB	cAMP応答配列結合タンパク質1	45247 4	1231	39242 8	2392	
M	CREB	cAMP応答配列結合タンパク質1	53672 6	1232	44589 2	2393	
M	CREB	cAMP応答配列結合タンパク質1	53978 9	1233	44080 9	2394	
M	eIF4E	真核細胞翻訳開始因子4E	28089 2	1234	28089 2	2395	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 5 9】

M	eIF4E	真核細胞翻訳開始因子4E	45025 3	1235	38962 4	2396	
M	HIF3- アルフ ア	低酸素誘導因子3,アルファ サブユニット	24430 2	1236	24430 2	2397	
M	HIF3- アルフ ア	低酸素誘導因子3,アルファ サブユニット	29130 0	1237	29130 0	2398	
M	FIH	低酸素誘導因子1,アルファ サブユニット阻害剤 (HIF阻 害因子)	29916 3	1238	29916 3	2399	
M	HIF3- アルフ ア)	低酸素誘導因子3,アルファ サブユニット	30086 2	1239	30086 2	2400	
M	HIF3- アルフ ア	低酸素誘導因子3,アルファ サブユニット	33961 3	1240	34187 7	2401	
M	HIF3- アルフ ア	低酸素誘導因子3,アルファ サブユニット	37767 0	1241	36689 8	2402	
M	HIF3- アルフ ア	低酸素誘導因子3,アルファ サブユニット	41470 7	1242	41280 8	2403	
M	HIF3- アルフ ア	低酸素誘導因子3,アルファ サブユニット	42010 2	1243	40777 1	2404	
M	FIH (HIF阻 害因子)	低酸素誘導因子1,アルファ サブユニット阻害剤	44272 4	1244	39973 4	2405	
M	HIF3- アルフ ア	低酸素誘導因子3,アルファ サブユニット	45777 1	1245	40800 8	2406	
M	HIF3- アルフ ア	低酸素誘導因子3,アルファ サブユニット	45786 5	1246	39405 2	2407	
M	HIF3- アルフ ア	低酸素誘導因子3,アルファ サブユニット	47543 2	1247	43257 8	2408	
M	FIH (HIF阻 害因子)	低酸素誘導因子1,アルファ サブユニット阻害剤	53358 9	1248	43336 0	2409	
M	Grb2	成長因子受容体結合タンパ ク質 2	31661 5	1249	31736 0	2410	
M	Grb2	成長因子受容体結合タンパ ク質 2	31680 4	1250	33900 7	2411	
M	Grb2	成長因子受容体結合タンパ ク質 2	39256 2	1251	37634 5	2412	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 6 0】

M	Grb2	成長因子受容体結合タンパク質 2	392564	1252	376347	2413	
M	HNF4 アルファ	肝細胞核因子4, アルファ	316099	1253	312987	2414	
M	HNF4 アルファ	肝細胞核因子4, アルファ	316673	1254	315180	2415	
M	HNF4 アルファ	肝細胞核因子4, アルファ	338692	1255	343807	2416	
M	HNF4 アルファ	肝細胞核因子4, アルファ	415691	1256	412111	2417	
M	HNF4 アルファ	肝細胞核因子4, アルファ	443598	1257	410911	2418	
M	HNF4 アルファ	肝細胞核因子4, アルファ	457232	1258	396216	2419	
M	HNF4 アルファ2	ヒト肝細胞核因子4, アルファ (HNF4A), 転写変異形2, mRNA	NA	1259	NA	2420	
M	IBP3	インスリン様成長因子 結合タンパク質3	275521	1260	275521	2421	
M	IBP3	インスリン様成長因子 結合タンパク質3	381083	1261	370473	2422	
M	IBP3	インスリン様成長因子 結合タンパク質3	381086	1262	370476	2423	
M	IBP3	インスリン様成長因子 結合タンパク質3	417621	1263	399116	2424	
M	IBP3	インスリン様成長因子 結合タンパク質3	428530	1264	390298	2425	
M	IBP3	インスリン様成長因子 結合タンパク質3	433047	1265	404461	2426	
M	IBP3	インスリン様成長因子 結合タンパク質3	438491	1266	393740	2427	
M	IBP3	インスリン様成長因子 結合タンパク質3	442142	1267	392472	2428	
M	IBP3	インスリン様成長因子 結合タンパク質3	545032	1268	439999	2429	
M	JAB1	COP9常時光形態形成相同体サブユニット5 (アラビドプシス(Arabidopsis))	357849	1269	350512	2430	
M	MNK1	MAPキナーゼ相互作用セリンスレオニン キナーゼ1	341183	1270	339573	2431	
M	MNK1	MAPキナーゼ相互作用セ	37194	1271	36101	2432	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 6 1】

		リンスレオニン キナーゼ1	4		2		
M	MNK1	MAPキナーゼ相互作用セ リンスレオニン キナーゼ1	37194 5	1272	36101 3	2433	
M	MNK1	MAPキナーゼ相互作用セ リンスレオニン キナーゼ1	37194 6	1273	36101 4	2434	
M	MNK1	MAPキナーゼ相互作用セ リンスレオニン キナーゼ1	42811 2	1274	41113 5	2435	
M	MNK1	MAPキナーゼ相互作用セ リンスレオニン キナーゼ1	49661 9	1275	43670 9	2436	
M	MNK1	MAPキナーゼ相互作用セ リンスレオニン キナーゼ1	54573 0	1276	44097 4	2437	
M	MNK2	MAPキナーゼ相互作用セ リンスレオニンキナーゼ2	25089 6	1277	25089 6	2438	
M	MNK2	MAPキナーゼ相互作用セ リンスレオニンキナーゼ2	30934 0	1278	30948 5	2439	
M	MNK2	MAPキナーゼ相互作用セ リンスレオニンキナーゼ2	54116 5	1279	43890 4	2440	
M	MNK2	MAPキナーゼ相互作用セ リンスレオニンキナーゼ2	54562 7	1280	44124 5	2441	
M	p15(IN K4A)	サイクリン依存性キナーゼ 阻害剤2B(p15,CDK4を阻 害)	27692 5	1281	27692 5	2442	
M	p15(IN K4A)	サイクリン依存性キナーゼ 阻害剤2B(p15,CDK4を阻 害)	38014 2	1282	36948 7	2443	
M	p300	E1A 結合タンパク質p300	26325 3	1283	26325 3	2444	
M	Per1	ピリオド相同体1 (ショウ ジョウバエ)	31727 6	1284	31442 0	2445	
M	Per1	ピリオド相同体1 (ショウ ジョウバエ)	35490 3	1285	34697 9	2446	
M	RPS6	リボソームタンパク質 S6	31537 7	1286	36974 3	2447	
M	RPS6	リボソームタンパク質 S6	38038 1	1287	36974 1	2448	
M	RPS6	リボソームタンパク質 S6	38038 4	1288	36974 5	2449	
M	RPS6	リボソームタンパク質 S6	38039 4	1289	36975 7	2450	
M	SHAR P1	ベータシク・ヘリックス・ ループ・ヘリックスファミ リー, メンバー e41	NA	1290	NA	2451	
M	SHAR P1 (BHLH E41)	ベータシク・ヘリックス・ ループ・ヘリックスファミ リー, メンバー e41	24272 8	1291	24272 8	2452	
M	SHAR	ベータシク・ヘリックス・	54073	1292	43736	2453	

10

20

30

【表 0 0 0 6 - 6 2】

	P1 (BHLH E41)	ループ・ヘリックスファミ リー, メンバー e41	1		9		
M	SRC1	核受容体同時活性化因子1	28859 9	1293	28859 9	2454	
M	SRC1	核受容体同時活性化因子1	34833 2	1294	32094 0	2455	
M	SRC1	核受容体同時活性化因子1	39585 6	1295	37919 7	2456	
M	SRC1	核受容体同時活性化因子1	40514 1	1296	38509 7	2457	
M	SRC1	核受容体同時活性化因子1	40696 1	1297	38521 6	2458	
M	SRC1	核受容体同時活性化因子1	53853 9	1298	44403 9	2459	
M	ツベリ ン	結節性硬化症2	21947 6	1299	21947 6	2460	
M	ツベリ ン	結節性硬化症2	35077 3	1300	34438 3	2461	
M	ツベリ ン	結節性硬化症2	35392 9	1301	24809 9	2462	
M	ツベリ ン	結節性硬化症2	38253 8	1302	37197 8	2463	
M	ツベリ ン	結節性硬化症2	40187 4	1303	38446 8	2464	
M	ツベリ ン	結節性硬化症2	43967 3	1304	39923 2	2465	
	AIFSH	アポトーシス誘発因子,短	NA	1305	NA	2466	
	Angiop oietin1	アンジオポエチン1	NA	1306	NA	2467	2492
	BMP2 CO	BMP2 CO	NA	1307	NA	2468	2493
	c-MYC	v-myc骨髄球腫症ウイルス 癌遺伝子相同体(鳥類)	NA	1308	NA	2469	
	COMM D1	COMMD1	NA	1309	NA		
	COMM D1 NES deleted	核外輸送配列が欠失した COMMD1	NA		NA	2470	
	COMM D1 NES1 欠失お よび NLS 添 加	核外輸送配列が欠失し、核 局在化シグナルが添加され たCOMMD1	NA		NA	2471	

10

20

30

【表 0006-63】

	COMM D1 SV40 NLS	SV40および核局在化シグ ナルを有するCOMMD1	NA		NA	2472	
	COMM D1wt	COMMD1野生型	NA		NA	2473	
	GLUT 1	溶質輸送体ファミリー 2 (促進型グルコース輸送体), メンバー 1	NA	1310	NA	2474	
	グラニ ュリシ ンFL15	グラニュリシンFL15	NA	1311	NA	2475	
	グラニ ュリシ ンNS9	グラニュリシンNS9	NA		NA	2476	2494
	グラニ ュリシ ンS9	グラニュリシンS9	NA		NA	2477	2495
	HIF1 a	低酸素誘導因子1,アルファ サブユニット (ベータシ ク・ヘリックス・ループ・ ヘリックス転写因子)	NA	1312	NA	2478	
	IL15	インターロイキン15	NA	1313	NA	2479	
	KGF	線維芽細胞増殖因子7,前駆 体,成熟体は32-194	NA	1314	NA	2480	
	MCT4	溶質輸送体ファミリー 16, メンバー 4 (モノカルボン 酸輸送体5)	NA	1315	NA	2481	2496
	MYC阻 害剤D	MYC阻害剤D (OMOMyc)	NA	1316	NA	2482	
	MYC阻 害剤D 90	MYC阻害剤D _90 (OmoMyc_90)	NA		NA	2483	
	C.A. カ スパー ゼ 3_cleav able	常時活性(C.A.)カスパーゼ 3切断可能(RevCasp3_切断 可能)	NA	1317	NA	2484	
	C.A. カ スパー ゼ 3_uncl eavabl e	常時活性(C.A.)カスパーゼ 3非切断可能(RevCasp3_非 切断可能)	NA	1318	NA	2485	
	C.A. カ スパー ゼ6	常時活性(C.A.)カスパーゼ 6 (RevCasp6)	NA	1319	NA	2486	

【表 0006-64】

	SIAh1	siah E3ユビキチンタンパ ク質リガーゼ1	NA	1320	NA	2487	
	HSV1- tk	単純疱疹ウイルス1-チミ ジンキナーゼ					

【0292】

表7に示されるのは、よく知られたがん症候群、腫瘍抑制遺伝子、腫瘍抑制遺伝子の機能、染色体の位置および観察される腫瘍の種類である。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドは、表に挙げられるもののいずれかのための治療薬として設計され得る。

表 7. 家族性がん症候群標的
【表 0007-1】

家族性癌症候群	腫瘍抑制遺伝子	機能	染色体の位置	観察される腫瘍の種類
リー・フラウメニ症候群	P53	細胞周期調節, アポトーシス	17p13.1	脳腫瘍,肉腫,白血病,乳癌
家族性網膜芽細胞腫	RB1	細胞周期調節	13q14.1-q14.2	網膜芽細胞腫, 骨原性肉腫
ウィルムス腫瘍	WT1	転写調節	11p13	小児腎臓癌, 幼少期の固形腫瘍で最も一般的な形態
1型神経繊維腫症	NF1	RAS不活性化の触媒作用	17q11.2	神経線維腫, 肉腫, 神経膠腫
2型神経繊維腫症	NF2	細胞膜のアクチン細胞骨格への結合	22q12.2	シュワン細胞腫瘍, 星状細胞腫, 髄膜腫, 上衣腫
家族性大腸ポリポーシス	APC	接着分子による核へのシグナル伝達	5q21-q22	大腸癌
結節性硬化症1	TSC1	TSC2タンパク質との複合体形成, mTORの下流エフェクターへのシグナル伝達阻害	9q34	発作、精神遅滞、顔の血管線維腫
結節性硬化症2	TSC2	TSC1タンパク質との複合体形成, mTORの下流エフェクターへのシグナル伝達阻害	16p13.3	多くの組織、星状細胞腫、横紋筋肉腫における良性の成長(過誤腫)
膵癌4欠失, 家族性若年性ポリポーシス症候群	DPC4, also known as SMAD4	TGF- β /BMPシグナル伝達の調節	18q21.1	膵臓の癌腫、大腸癌
大腸癌欠失	DCC	ネトリン経由の軸索誘導に関与する膜貫通受容体	18q21.3	結腸直腸癌
家族性乳癌	BRCA1	転写、DNA結合、転写連動DNA修復、相同組み換え、染色体の安定性、タンパク質のユビキチン化および中心体複製で機能	17q21	乳癌と卵巣癌

10

20

30

40

【表 0007-2】

家族性乳癌	BRCA2 (FANCD1)	DNA修復および 相同組み換えに 関与する遺伝子 の転写調節	13q12.3	乳癌と卵巣癌
カウデン病	PTEN	ホスホイノシチ ド3-ホスファタ ーゼ、タンパク 質チロシンホス ファーゼ	10q23.3	神経膠腫、乳癌、 甲状腺癌、頭頸部 扁平上皮癌
ポイツ・ジェガ ース症候群 (PJS)	STK11 (serine- threonine キナーゼ 11)	AMP活性化キナ ーゼ(AMPK)、ス トレス応答、脂 質およびグルコ ース代謝に関連 するAMPKのリン 酸化するおよび 活性化	19p13.3	色素沈着過度、多 発性過誤腫性ポリ ーブ、結腸直腸 癌、乳癌および卵 巣癌
1型遺伝性非腺 腫性大腸 癌,HNPCC1	MSH2	DNAミスマッチ 修復	2p22-p21	大腸癌
2型遺伝性非腺 腫性大腸 癌,HNPCC2	MLH1	DNAミスマッチ 修復	3p21.3	大腸癌
家族性拡散型胃 癌	CDH1	細胞-細胞接着 タンパク質	16q22.1	胃癌、小葉乳癌
フォンヒッペ ル・リンダウ病	VHL	ユビキチンリガ ーゼ複合体の活 性化による転写 伸長調節	3p26-p25	腎臓癌、血管細胞 芽腫、クロム親和 性細胞腫、網膜血 管腫
家族性黒色腫	CDKN2A	p16INK4は細胞 周期キナーゼ CDK4および CDK6を阻 害;p14ARFはp53 安定化タンパク 質MDM2を結合	9p21	黒色腫、膵癌、そ の他
ゴーリン症候 群:母斑性基底 細胞癌症候群 (NBCCS)	PTCH (例 えば、 PTCH1, PTCH2)	ソニックヘッジ ホッグ(shh)のた めの膜貫通受容 体、スムーゼン ドの作用の抑制 を通して初期発 生に関係	9q22.3	基底細胞皮膚癌
1型多発性内分 泌腺腫	MEN1	ストランド内 DNA架橋修復	11q13	副甲状腺および下 垂体腺腫、島細胞 腫瘍、カルチノイ ド

10

20

30

【0293】

上記標的に加え、腫瘍学関連ポリペプチドは、免疫系の活性T細胞に識別され得るいずれかの「死シグナル」タンパク質を含み得る。センサーシグナルポリヌクレオチドによってコードされるそのような自殺シグナルタンパク質を、操作したマイクロRNA結合部位および／または本明細書に記載される他の調節要素を通して特定の組織または細胞（例えばがん細胞）で選択的に発現させ得る。このタンパク質のグループは、がん細胞の表面上に発現した場合、T細胞を刺激して、T細胞媒介性免疫応答を誘導し得、こうしてがん細胞を殺す。非制限的な例として、「死シグナル」を表すとして知られるタンパク質のグループには、CD80、CD86、B7およびMHC I Iなどが含まれる。

40

【0294】

タンパク質切断シグナルおよび部位

一実施形態において、本発明の腫瘍学関連ポリペプチドは、少なくとも1個のタンパク

50

質切断部位を含有する少なくとも 1 個のタンパク質切断シグナルを含み得る。タンパク質切断部位は、N 末端と C 末端の真ん中、N 末端と中間点との間、中間点と C 末端との間、およびこれらの組み合わせ等であるが、これらに限定されない N 末端と C 末端との間の任意の空間で、N 末端、C 末端に位置し得る。

【0295】

本発明の腫瘍学関連ポリペプチドは、プロタンパク質コンバーターゼ（またはプロホルモンコンバーターゼ）、トロンビン、または第 Xa 因子タンパク質切断シグナルを含み得るが、これらに限定されない。プロタンパク質コンバーターゼは、プロホルモンコンバーターゼ 1/3（PC1/3）、PC2、フーリン、PC4、PC5/6、対合塩基性アミノ酸切断酵素 4（PACE4）、および PC7 として既知の酵母ケキシンに関連した 7 個の塩基性アミノ酸特異的サブチリシン様セリンプロテイナーゼと、サブチリシンケキシンアイソザイム 1（SKI-1）およびプロタンパク質コンバーターゼサブチリシンケキシン 9（PCSK9）と呼ばれる非塩基性残基で切断する他の 2 個のサブチラーゼを含む 9 個のプロテイナーゼのファミリーである。タンパク質切断シグナルアミノ酸配列の非限定的な例が表 8 に列記される。表 8 において、「X」は、任意のアミノ酸を指し、「n」は、0、2、4、または 6 個のアミノ酸であり得、「*」は、タンパク質切断部位を指す。表 8 において、配列番号 2499 は、n が 4 であるときを指し、配列番号 2500 は、n が 6 であるときを指す。

表 8. タンパク質切断部位配列

【表 0008】

タンパク質切断シグナル	アミノ酸切断配列	配列番号
プロタンパク質コンバーターゼ	R-X-X-R*	2497
	R-X-K/R-R*	2498
	K/R-Xn-K/R*	2499または2500
トロンビン	L-V-P-R*-G-S	2501
	L-V-P-R*	2502
	A/F/G/I/L/T/V/M-A/F/G/I/L/T/V/W-P-R*	2503
第Xa因子	I-E-G-R*	2504
	I-D-G-R*	2505
	A-E-G-R*	2506
	A/F/G/I/L/T/V/M-D/E-G-R*	2507

【0296】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサー一次構築物および mRNA は、一次構築物または mRNA が少なくとも 1 個のコードされたタンパク質切断シグナルを含有するように操作され得る。コードされたタンパク質切断シグナルは、開始コドンの前、開始コドンの後、コーディング領域の前、コーディング領域内に位置し得、例えば、コーディング領域の中間、開始コドンと中間点との間、中間点と終止コドンとの間、コーディング領域の後、終止コドンの後、2 つの終止コドンの間、終止コドンの後、およびこれらの組み合わせ等であるが、これらに限定されない。

【0297】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサー一次構築物または mRNA は、少なくとも 1 個のタンパク質切断部位を含有する少なくとも 1 個のコードされたタンパク質切断シグナルを含み得る。コードされたタンパク質切断シグナルは、プロタンパク質コンバーターゼ（もしくはプロホルモンコンバーターゼ）、トロンビン、および/または第 Xa 因子タンパク質切断シグナルを含み得るが、これらに限定されない。当業者であれば、上の表 1 または他の既知の方法を用いて、本発明のシグナルセンサー一次構築物または mRNA に含める適切なコードされたタンパク質切断シグナルを決定することができる。例えば、表 8 のシグナルから始め、表 1 のコドンを検討して、結果として生じる腫瘍学関連ポリペプチドにおいてタンパク質シグナルを生成し得るシグナルセンサー一次構築物のシグナ

ルを設計することができる。

【0298】

一実施形態において、本発明の腫瘍学関連ポリペプチドは、少なくとも1個のタンパク質切断シグナルおよび／または部位を含む。

【0299】

非限定的な例として、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第7,374,930号および米国特許公開第20090227660号は、フリーリン切断部位を用いて、発現産物におけるGLP-1のN末端メチオニンをその細胞のゴルジ装置から切断する。一実施形態において、本発明のポリペプチドは、少なくとも1個のタンパク質切断シグナルおよび／または部位を含むが、但し、ポリペプチドがGLP-1ではないことを条件とする。

10

【0300】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサー一次構築物またはmmRNAは、少なくとも1個のコードされたタンパク質切断シグナルおよび／または部位を含む。

【0301】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサー一次構築物またはmmRNAは、少なくとも1個のコードされたタンパク質切断シグナルおよび／または部位を含むが、但し、シグナルセンサー一次構築物またはmmRNAがGLP-1をコードしないことを条件とする。

【0302】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサー一次構築物またはmmRNAは、2つ以上のコーディング領域を含み得る。複数のコーディング領域が本発明のシグナルセンサー一次構築物またはmmRNAに存在する場合、複数のコーディング領域は、コードされたタンパク質切断部位によって分離され得る。非限定的な例として、シグナルセンサー一次構築物またはmmRNAは、順序付けられたパターンで書き込まれ得る。そのようなパターンは、A X B Y形態に従い、式中、AおよびBは、同一もしくは異なるコーディング領域であり得、かつ／または同一もしくは異なる腫瘍学関連ポリペプチドをコードし得るコーディング領域であり、XおよびYは、同一もしくは異なるタンパク質切断シグナルをコードし得るコードされたタンパク質切断シグナルである。第2のそのようなパターンは、A X Y B Z形態に従い、式中、AおよびBは、同一もしくは異なるコーディング領域であり得、かつ／または同一もしくは異なる腫瘍学関連ポリペプチドをコードし得るコーディング領域であり、X、Y、およびZは、同一もしくは異なるタンパク質切断シグナルをコードし得るコードされたタンパク質切断シグナルである。第3のパターンは、A B X C Y形態に従い、A、B、およびCは、同一もしくは異なるコーディング領域であり得、かつ／または同一もしくは異なる腫瘍学関連ポリペプチドをコードし得るコーディング領域であり、XおよびYは、同一もしくは異なるタンパク質切断シグナルをコードし得るコードされたタンパク質切断シグナルである。

20

30

【0303】

一実施形態において、腫瘍学関連ポリペプチド、シグナルセンサー一次構築物およびmmRNAはまた、ポリペプチド、シグナルセンサー一次構築物およびmmRNAがタンパク質切断部位に特異的であるプロテアーゼでの処理によって担体領域または融合パートナーから放出され得るように、前記タンパク質切断部位をコードする配列も含有し得る。

40

【0304】

マイクロRNA

マイクロRNA（またはmiRNA）は、核酸分子の3'UTRに結合し、かつ核酸分子安定性を低下させるか、または翻訳を阻害するかのいずれかによって遺伝子発現を下方制御する19～25ヌクレオチド長の非コードRNAである。本発明の修飾核酸（mRNA）、強化した修飾RNAまたはリボ核酸は、1つ以上のマイクロRNA標的配列、マイクロRNA配列またはマイクロRNA種を含み得る。そのような配列は、米国特許公開第US2005/0261218号および米国特許公開第US2005/0059005号

50

に教示されるもの等の任意の既知のマイクロRNAに対応し得、これらの内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。非制限的な実施形態として、ヒトゲノムの、公知のマイクロRNA、その配列および結合部位配列が下記表9に列記される。

【0305】

マイクロRNA配列は、「種」領域、すなわち、成熟マイクロRNAの2～8位の領域における配列を含み、この配列は、miRNA標的配列に対して完全なワトソン・クリック相補性を有する。マイクロRNA種は、成熟マイクロRNAの2～8位または2～7位を含み得る。いくつかの実施形態において、マイクロRNA種は、7個のヌクレオチド（例えば、成熟マイクロRNAのヌクレオチド2～8位）を含み得、対応するmiRNA標的におけるこの種相補的部位には、マイクロRNA 1位と反対のアデニン（A）が隣接する。いくつかの実施形態において、マイクロRNA種は、6個のヌクレオチド（例えば、成熟マイクロRNAのヌクレオチド2～7位）を含み得、対応するmiRNA標的における種相補的部位は、マイクロRNA 1位と反対のアデニン（A）に隣接する。例えば、Grimson A, Farh KK, Johnston WK, Garrett-Engle P, Lim LP, Bartel DP; Mol Cell. 2007 Jul 6; 27(1): 91-105を参照されたく、各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる。マイクロRNA種の塩基は、標的配列と完全な相補性を有する。マイクロRNA標的配列を操作して、本発明の核酸またはmRNAの3' UTRに入れることによって、分解または翻訳減少のためにこの分子を標的化することができるが、但し、問題のマイクロRNAが利用可能であることを条件とする。このプロセスは、核酸分子送達時のオフターゲット効果の危険を低下させる。マイクロRNA、マイクロRNA標的領域、およびそれらの発現パターンの特定、ならびに生物学におけるそれらの役割が報告されている（各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる、Bonauer et al., Curr Drug Targets 2010 11: 943-949、Anand and Cheresch Curr Opin Hematol 2011 18: 171-176、Contreras and Rao Leukemia 2012 26: 404-413 (2011 Dec 20. doi: 10.1038/leu.2011.356)、Bartel Cell 2009 136: 215-233、Landgraf et al., Cell, 2007 129: 1401-1414、Gentner and Naldini, Tissue Antigens. 2012 80: 393-403およびこれらの文献内の全引用文献）。

【0306】

例えば、シグナルセンサーポリヌクレオチドが肝臓に送達されることが意図されないが、そこで落ち着く場合、miR-122の1つまたは複数の標的部位が操作されて、シグナルセンサーポリヌクレオチドの3' UTRに入れられると、肝臓中に豊富なマイクロRNAであるmiR-122が目的とする遺伝子の発現を阻害することができる。異なるマイクロRNAの1つまたは複数の結合部位の導入を操作して、シグナルセンサーポリヌクレオチドの長寿命、安定性、およびタンパク質翻訳をさらに減少させることができる。本明細書で使用する時、「マイクロRNA部位」という用語は、マイクロRNA標的部位もしくはマイクロRNA認識部位、またはマイクロRNAが結合もしくは会合する任意のヌクレオチド配列を指す。「結合」は、従来のワトソン・クリックハイブリダイゼーション規則に従い得るか、あるいはマイクロRNA部位に、またはマイクロRNA部位に隣接して標的配列を有するマイクロRNAの任意の安定した会合を示し得ることを理解された。

【0307】

逆に、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドの目的のために、特定の組織でのタンパク質発現を増加させるために自然に生じるマイクロRNA結合部位を操作して配列から出す（すなわち、配列から除去する）ことができる。例えば、miR-122結合部位が除去されて、肝臓でのタンパク質発現を改善することができる。

【0308】

一実施形態において、細胞傷害性または細胞保護性mRNA治療薬を、限定はしないが正常および／またはがん細胞（例えばHEP3BまたはSNU449）といった特定の細胞に指向するために、シグナルセンサーポリヌクレオチドは少なくとも1つのmiRNA結合部位を3'UTRに含み得る。非制限的な例として、強いアポトーシスシグナルおよび少なくとも1つのmiR-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該少なくとも1つのmiR-122a結合部位は3'UTRに位置する。別の非制限的な例として、アポトーシス誘導因子短アイソフォーム（AIFsh）および少なくとも1つのmiR-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該少なくとも1つのmiR-122a結合部位は3'UTRに位置する。さらに別の非制限的な例として、構成的活性型（C.A.）カスパーゼ6および少なくとも1つのmiR-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該少なくとも1つのmiR-122a結合部位は3'UTRに位置する。別の非制限的な例として、HSV1-tkおよび少なくとも1つのmiR-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該少なくとも1つのmiR-122a結合部位が3'UTRに位置する。

10

【0309】

別の実施形態では、細胞傷害性または細胞保護性mRNA治療薬を、限定はしないが正常および／またはがん細胞（例えばHEP3BまたはSNU449）といった特定の細胞に指向するために、シグナルセンサーポリヌクレオチドは3つのmiRNA結合部位を3'UTRに含み得る。非制限的な例として、強いアポトーシスシグナルおよび3つのmiR-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該3つのmiR-122a結合部位は3'UTRに位置する。別の非制限的な例として、アポトーシス誘導因子短アイソフォーム（AIFsh）および3つのmiR-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該3つのmiR-122a結合部位は3'UTRに位置する。さらに別の非制限的な例として、構成的活性型（C.A.）カスパーゼ6および3つのmiR-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該3つのmiR-122a結合部位は3'UTRに位置する。別の非制限的な例として、HSV1-tkおよび3つのmiR-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該3つのmiR-122a結合部位が3'UTRに位置する。

20

30

【0310】

複数の組織での発現の制御は、導入もしくは除去または1もしくは複数のマイクロRNA結合部位を通して達成され得る。下記表10で示されるのは、異なる組織および細胞で差次的に発現され、しばしば異なる種類の疾患に関連する（例えば、がん細胞）マイクロRNAである。マイクロRNA結合部位の除去もしくは挿入またはいずれかの組み合わせの決定は、がん細胞におけるマイクロRNA発現パターンおよびそのプロファイリング次第である。

【0311】

マイクロRNAがmRNAを制御し、それによってタンパク質発現を制御することが分かっている組織の例としては、肝臓（miR-122）、筋肉（miR-133、miR-206、miR-208）、内皮細胞（miR-17-92、miR-126）、骨髄系細胞（miR-142-3p、miR-142-5p、miR-16、miR-21、miR-223、miR-24、miR-27）、神経系（miR-124a、miR-9）、多能性細胞（miR-302、miR-367、miR-290、miR-371、miR-373）、膵島細胞（miR-375）、脂肪組織（let-7、miR-30c）、心臓（miR-1d、miR-149）、腎臓（miR-192、miR-194、miR-204）、および肺上皮細胞（let-7、miR-133、miR-126）が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0312】

具体的には、マイクロRNAは免疫細胞（造血細胞）で差次的に発現することで知られ

50

ており、例えば、抗原提示細胞（A P C）（例えば、樹状細胞およびマクロファージ）、マクロファージ、単球、Bリンパ球、Tリンパ球、顆粒球、ナチュラルキラー細胞などである。免疫細胞特異的マイクロRNAは、免疫原性、自己免疫、感染症に対する免疫応答、炎症、ならびに、遺伝子療法および組織／器官移植後の所望されない免疫応答にも関わる。免疫細胞特異的マイクロRNAはまた、造血細胞（免疫細胞）の発達、増殖、分化およびアポトーシスの多くの側面を制御する。例えば、mi R-142およびmi R-146は免疫細胞で排他的に発現され、特に骨髓系樹状細胞で豊富である。mi R-142結合部位を本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドの3'-UTRに導入することは、mi R-142媒介性mRNA分解を通して、抗原提示細胞での遺伝子発現を選択的に抑制し得、プロフェッショナルなA P C（例えば、樹状細胞）での抗原提示を制限し、それによって、遺伝子送達後の抗原媒介性免疫応答を阻止する（Annoni A et al., blood, 2009, 114, 5152-5161を参照、その内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0313】

一実施形態において、免疫細胞、特に抗原提示細胞で発現されることが知られているマイクロRNA結合部位は、操作されてシグナルセンサーポリヌクレオチドに入れられて、マイクロRNA媒介性RNA分解を通してA P Cのセンサーポリヌクレオチドの発現を抑制し、センサーポリヌクレオチドの発現が免疫細胞特異的マイクロRNAが発現されない非免疫細胞では維持される一方で、抗原媒介性免疫応答を抑え得る。例えば、肝臓特異的タンパク質によって引き起こされる免疫原性反応を阻止するために、mi R-122結合部位を取り除き得、mi R-142（および／またはmi R-146）結合部位が操作されてシグナルセンサーポリヌクレオチドの3'-UTRに入れられ得る（例えば、実施例38に記載される構築物ならびに実施例39および40で説明される実験を参照）。

【0314】

A P CおよびマクロファージのmRNAの選択的分解および抑制をさらに駆り立てるために、シグナルセンサーポリヌクレオチドは、3'-UTRに別の陰性調節要素を、単独か、またはmi R-142および／またはmi R-146結合部位との組み合わせのいずれかで含み得る。非制限的な例として、1つの調節要素は、構成的分解要素（CDE）である。

【0315】

免疫細胞特異的マイクロRNAとしては、hsa-let-7a-2-3p、hsa-let-7a-3p、hsa-7a-5p、hsa-let-7c、hsa-let-7e-3p、hsa-let-7e-5p、hsa-let-7g-3p、hsa-let-7g-5p、hsa-let-7i-3p、hsa-let-7i-5p、mi R-10a-3p、mi R-10a-5p、mi R-1184、hsa-let-7f-1-3p、hsa-let-7f-2-5p、hsa-let-7f-5p、mi R-125b-1-3p、mi R-125b-2-3p、mi R-125b-5p、mi R-1279、mi R-130a-3p、mi R-130a-5p、mi R-132-3p、mi R-132-5p、mi R-142-3p、mi R-142-5p、mi R-143-3p、mi R-143-5p、mi R-146a-3p、mi R-146a-5p、mi R-146b-3p、mi R-146b-5p、mi R-147a、mi R-147b、mi R-148a-5p、mi R-148a-3p、mi R-150-3p、mi R-150-5p、mi R-151b、mi R-155-3p、mi R-155-5p、mi R-15a-3p、mi R-15a-5p、mi R-15b-5p、mi R-15b-3p、mi R-16-1-3p、mi R-16-2-3p、mi R-16-5p、mi R-17-5p、mi R-181a-3p、mi R-181a-5p、mi R-181a-2-3p、mi R-182-3p、mi R-182-5p、mi R-197-3p、mi R-197-5p、mi R-21-5p、mi R-21-3p、mi R-214-3p、mi R-214-5p、mi R-223-3p、mi R-223-5p、mi R-221-3p、mi R-221-5p、mi R-23b-3p、mi R-23b-5p、mi R-24

-1-5 p、mi R-24-2-5 p、mi R-24-3 p、mi R-26a-1-3 p、
 mi R-26a-2-3 p、mi R-26a-5 p、mi R-26b-3 p、mi R-
 26b-5 p、mi R-27a-3 p、mi R-27a-5 p、mi R-27b-3 p、
 mi R-27b-5 p、mi R-28-3 p、mi R-28-5 p、mi R-2909、
 mi R-29a-3 p、mi R-29a-5 p、mi R-29b-1-5 p、mi R-2
 9b-2-5 p、mi R-29c-3 p、mi R-29c-5 p、mi R-30e-3 p
 、mi R-30e-5 p、mi R-331-5 p、mi R-339-3 p、mi R-33
 9-5 p、mi R-345-3 p、mi R-345-5 p、mi R-346、mi R-3
 4a-3 p、mi R-34a-5 p、mi R-363-3 p、mi R-363-5 p、m
 i R-372、mi R-377-3 p、mi R-377-5 p、mi R-493-3 p、
 mi R-493-5 p、mi R-542、mi R-548b-5 p、mi R548c-5
 p、mi R-548i、mi R-548j、mi R-548n、mi R-574-3 p、
 mi R-598、mi R-718、mi R-935、mi R-99a-3 p、mi R-9
 9a-5 p、mi R-99b-3 pおよびmi R-99b-5 pが挙げられるが、これら
 に限定されない。下記表11に示されるのは、特定の種類の免疫細胞に濃縮されたマイク
 ロRNAである。さらに、新規のマイクロRNAが、マイクロアレーハイブリダイゼーショ
 ンおよびマイクローム分析を通して当該技術分野の免疫細胞で発見された（Jima D
 et al., Blood, 2010, 116: e118-e127; Vaz C
 et al., BMC Genomics, 2010, 11, 288, 各内容は参照によ
 りその全体が本明細書に組み込まれる）。

10

20

【0316】

肝臓で発現すると分かっているマイクロRNAとしては、mi R-107、mi R-
 122-3 p、mi R-122-5 p、mi R-1228-3 p、mi R-122
 8-5 p、mi R-1249、mi R-129-5 p、mi R-1303、mi
 R-151a-3 p、mi R-151a-5 p、mi R-152、mi R-194
 -3 p、mi R-194-5 p、mi R-199a-3 p、mi R-199a-5
 p、mi R-199b-3 p、mi R-199b-5 p、mi R-296-5 p、
 mi R-557、mi R-581、mi R-939-3 p、mi R-939-5
 pが挙げられるが、これらに限定されない。いずれの肝臓特異的マイクロRNA由来のマイ
 クロRNA結合部位も、シグナルセンサーポリヌクレオチドに導入、またはシグナルセ
 ンサーポリヌクレオチドから除去して、肝臓におけるシグナルセンサーポリヌクレオチド
 の発現を制御し得る。肝臓特異的マイクロRNA結合部位は、単独で操作され得、または
 、肝臓のタンパク質発現に対する免疫応答を阻止するために、免疫細胞（例えばAPC）
 マイクロRNA結合部位とさらに組み合わせて操作され得る。

30

【0317】

肺で発現すると分かっているマイクロRNAとしては、let-7a-2-3 p、let-
 7a-3 p、let-7a-5 p、mi R-126-3 p、mi R-126-5 p、
 mi R-127-3 p、mi R-127-5 p、mi R-130a-3 p、mi R-13
 0a-5 p、mi R-130b-3 p、mi R-130b-5 p、mi R-133a、m
 i R-133b、mi R-134、mi R-18a-3 p、mi R-18a-5 p、mi
 R-18b-3 p、mi R-18b-5 p、mi R-24-1-5 p、mi R-24-2
 -5 p、mi R-24-3 p、mi R-296-3 p、mi R-296-5 p、mi R-
 32-3 p、mi R-337-3 p、mi R-337-5 p、mi R-381-3 p、m
 i R-381-5 pが挙げられるが、これらに限定されない。いずれの肺特異的マイクロ
 RNA由来のマイクロRNA結合部位も、シグナルセンサーポリヌクレオチドに導入、ま
 たはシグナルセンサーポリヌクレオチドから除去して、肺におけるシグナルセンサーポリ
 ヌクレオチドの発現を制御し得る。肺特異的マイクロRNA結合部位は、単独で操作され
 得、または、肺のタンパク質発現に対する免疫応答を阻止するために、免疫細胞（例えば
 APC）マイクロRNA結合部位とさらに組み合わせて操作され得る。

40

【0318】

50

心臓で発現すると分かっているマイクロRNAとしては、miR-1、miR-133a、miR-133b、miR-149-3p、miR-149-5p、miR-186-3p、miR-186-5p、miR-208a、miR-208b、miR-210、miR-296-3p、miR-320、miR-451a、miR-451b、miR-499a-3p、miR-499a-5p、miR-499b-3p、miR-499b-5p、miR-744-3p、miR-744-5p、miR-92b-3pおよびmiR-92b-5pが挙げられるが、これらに限定されない。いずれの心臓特異的マイクロRNA由来のマイクロRNA結合部位も、シグナルセンサーポリヌクレオチドに導入、またはシグナルセンサーポリヌクレオチドから除去して、心臓におけるシグナルセンサーポリヌクレオチドの発現を制御し得る。心臓特異的マイクロRNA結合部位は、単独で操作され得、または、心臓のタンパク質発現に対する免疫応答を阻止するために、免疫細胞（例えばAPC）マイクロRNA結合部位とさらに組み合わせて操作され得る。

10

【0319】

神経系で発現すると分かっているマイクロRNAとしては、miR-124-5p、miR-125a-3p、miR-125a-5p、miR-125b-1-3p、miR-125b-2-3p、miR-125b-5p、miR-1271-3p、miR-1271-5p、miR-128、miR-132-5p、miR-135a-3p、miR-135a-5p、miR-135b-3p、miR-135b-5p、miR-137、miR-139-5p、miR-139-3p、miR-149-3p、miR-149-5p、miR-153、miR-181c-3p、miR-181c-5p、miR-183-3p、miR-183-5p、miR-190a、miR-190b、miR-212-3p、miR-212-5p、miR-219-1-3p、miR-219-2-3p、miR-23a-3p、miR-23a-5p、miR-30a-5p、miR-30b-3p、miR-30b-5p、miR-30c-1-3p、miR-30c-2-3p、miR-30c-5p、miR-30d-3p、miR-30d-5p、miR-329、miR-342-3p、miR-3665、miR-3666、miR-380-3p、miR-380-5p、miR-383、miR-410、miR-425-3p、miR-425-5p、miR-454-3p、miR-454-5p、miR-483、miR-510、miR-516a-3p、miR-548b-5p、miR-548c-5p、miR-571、miR-7-1-3p、miR-7-2-3p、miR-7-5p、miR-802、miR-922、miR-9-3pおよびmiR-9-5pが挙げられるが、これらに限定されない。神経系で濃縮されるマイクロRNAにはさらにニューロンで特異的に発現するものが含まれ、例えば、miR-132-3p、miR-132-3p、miR-148b-3p、miR-148b-5p、miR-151a-3p、miR-151a-5p、miR-212-3p、miR-212-5p、miR-320b、miR-320e、miR-323a-3p、miR-323a-5p、miR-324-5p、miR-325、miR-326、miR-328、miR-922が挙げられるがこれらに限定はされず、ならびに、グリア細胞で特異的に発現されるものが含まれ、例えば、miR-1250、miR-219-1-3p、miR-219-2-3p、miR-219-5p、miR-23a-3p、miR-23a-5p、miR-3065-3p、miR-3065-5p、miR-30e-3p、miR-30e-5p、miR-32-5p、miR-338-5p、miR-657が挙げられるが、これらに限定されない。いずれのCNS特異的マイクロRNA由来のマイクロRNA結合部位も、シグナルセンサーポリヌクレオチドに導入、またはシグナルセンサーポリヌクレオチドから除去して、神経系におけるシグナルセンサーポリヌクレオチドの発現を制御し得る。神経系特異的マイクロRNA結合部位は、単独で操作され得、または、神経系のタンパク質発現に対する免疫応答を阻止するために、免疫細胞（例えばAPC）マイクロRNA結合部位とさらに組み合わせて操作され得る。

20

30

40

【0320】

膵臓で発現すると分かっているマイクロRNAとしては、miR-105-3p、mi

50

R-105-5p、miR-184、miR-195-3p、miR-195-5p、miR-196a-3p、miR-196a-5p、miR-214-3p、miR-214-5p、miR-216a-3p、miR-216a-5p、miR-30a-3p、miR-33a-3p、miR-33a-5p、miR-375、miR-7-1-3p、miR-7-2-3p、miR-493-3p、miR-493-5pおよびmiR-944が挙げられるが、これらに限定されない。いずれの膵臓特異的マイクロRNA由来のマイクロRNA結合部位も、シグナルセンサーポリヌクレオチドに導入、またはシグナルセンサーポリヌクレオチドから除去して、膵臓におけるシグナルセンサーポリヌクレオチドの制御を調節し得る。膵臓特異的マイクロRNA結合部位は、単独で操作され得、または、膵臓のタンパク質発現に対する免疫応答を阻止するために、免疫細胞（例えばAPC）マイクロRNA結合部位とさらに組み合わせて操作され得る。

10

【0321】

腎臓で発現すると分かっているマイクロRNAとしてはさらに、miR-122-3p、miR-145-5p、miR-17-5p、miR-192-3p、miR-192-5p、miR-194-3p、miR-194-5p、miR-20a-3p、miR-20a-5p、miR-204-3p、miR-204-5p、miR-210、miR-216a-3p、miR-216a-5p、miR-296-3p、miR-30a-3p、miR-30a-5p、miR-30b-3p、miR-30b-5p、miR-30c-1-3p、miR-30c-2-3p、miR-30c-5p、miR-324-3p、miR-335-3p、miR-335-5p、miR-363-3p、miR-363-5pおよびmiR-562が挙げられるが、これらに限定されない。いずれの腎臓特異的マイクロRNA由来のマイクロRNA結合部位も、シグナルセンサーポリヌクレオチドに導入、またはシグナルセンサーポリヌクレオチドから除去して、腎臓におけるシグナルセンサーポリヌクレオチドの発現を制御し得る。腎臓特異的マイクロRNA結合部位は、単独で操作され得、または、腎臓のタンパク質発現に対する免疫応答を阻止するために、免疫細胞（例えばAPC）マイクロRNA結合部位とさらに組み合わせて操作され得る。

20

【0322】

筋肉で発現すると分かっているマイクロRNAとしてはさらに、let-7g-3p、let-7g-5p、miR-1、miR-1286、miR-133a、miR-133b、miR-140-3p、miR-143-3p、miR-143-5p、miR-145-3p、miR-145-5p、miR-188-3p、miR-188-5p、miR-206、miR-208a、miR-208b、miR-25-3pおよびmiR-25-5pが挙げられるが、これらに限定されない。いずれの筋肉特異的マイクロRNA由来のマイクロRNA結合部位も、シグナルセンサーポリヌクレオチドに導入、またはシグナルセンサーポリヌクレオチドから除去して、筋肉におけるシグナルセンサーポリヌクレオチドの発現を制御し得る。筋肉特異的マイクロRNA結合部位は、単独で操作され得、または、筋肉のタンパク質発現に対する免疫応答を阻止するために、免疫細胞（例えばAPC）マイクロRNA結合部位とさらに組み合わせて操作され得る。

30

【0323】

マイクロRNAは内皮細胞、上皮細胞および脂肪細胞といった異なる種類の細胞では差次的に発現される。例えば、内皮細胞で発現されるマイクロRNAとしては、let-7b-3p、let-7b-5p、miR-100-3p、miR-100-5p、miR-101-3p、miR-101-5p、miR-126-3p、miR-126-5p、miR-1236-3p、miR-1236-5p、miR-130a-3p、miR-130a-5p、miR-17-5p、miR-17-3p、miR-18a-3p、miR-18a-5p、miR-19a-3p、miR-19a-5p、miR-19b-1-5p、miR-19b-2-5p、miR-19b-3p、miR-20a-3p、miR-20a-5p、miR-217、miR-210、miR-21-3p、miR-21-5p、miR-221-3p、miR-221-5p、miR-222-3p

40

50

、miR-222-5p、miR-23a-3p、miR-23a-5p、miR-296-5p、miR-361-3p、miR-361-5p、miR-421、miR-424-3p、miR-424-5p、miR-513a-5p、miR-92a-1-5p、miR-92a-2-5p、miR-92a-3p、miR-92b-3pおよびmiR-92b-5pが挙げられるが、これらに限定されない。多くの新規マイクロRNAが、ディープ配列決定分析から内皮細胞で発見された（Voellenklee *et al.*, RNA, 2012, 18, 472-484, 参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。）いずれかの内皮細胞特異的マイクロRNA由来のマイクロRNA結合部位は、シグナルセンサーポリヌクレオチドに導入、またはシグナルセンサーポリヌクレオチドから除去して、様々な状態で内皮細胞におけるシグナルセンサーポリヌクレオチドの発現を制御し得る。

10

【0324】

さらなる例として、上皮細胞で発現されるマイクロRNAとしては、let-7b-3p、let-7b-5p、miR-1246、miR-200a-3p、miR-200a-5p、miR-200b-3p、miR-200b-5p、miR-200c-3p、miR-200c-5p、miR-338-3p、miR-429、miR-451a、miR-451b、miR-494、miR-802および呼吸性繊毛上皮細胞で特異的であるmiR-34a、miR-34b-5p、miR-34c-5p、miR-449a、miR-449b-3p、miR-449b-5p；肺上皮細胞で特異的であるlet-7ファミリー、miR-133a、miR-133b、miR-126；腎臓上皮細胞で特異的であるmiR-382-3p、miR-382-5pならび角膜上皮細胞で特異的であるmiR-762が挙げられるが、これらに限定されない。いずれの上皮細胞特異的マイクロRNA由来のマイクロRNA結合部位も、シグナルセンサーポリヌクレオチドに導入、またはシグナルセンサーポリヌクレオチドから除去して、様々な状態で上皮細胞におけるシグナルセンサーポリヌクレオチドの発現を制御し得る。

20

【0325】

さらに、大きなグループのマイクロRNAは胚幹細胞で濃縮され、幹細胞の自己複製、ならびに、神経細胞、心臓、造血細胞、皮膚細胞、骨形成原細胞および筋細胞といった様々な細胞系列の発達および／または分化を制御する（Kuppusamy *et al.*, Curr. Mol. Med, 2013, 13(5), 757-764；Vidigal *et al.*, J. Cell. Biochem. 2012, 105(5-6), 428-436；Goff *et al.*, PLoS One, 2009, 4:e7192；Morin *et al.*, Genome Res, 2008, 18, 610-621；Yoo *et al.*, Stem Cells Dev, 2012, 21(11), 2049-2057, 各々の全体が参照により本明細書に組み込まれる）。胚性幹細胞に豊富であるマイクロRNAとしては、let-7a-2-3p、let-7a-3p、let-7a-5p、let-7d-3p、let-7d-5p、miR-103a-2-3p、miR-103a-5p、miR-106b-3p、miR-106b-5p、miR-1246、miR-1275、miR-138-1-3p、miR-138-2-3p、miR-138-5p、miR-154-3p、miR-154-5p、miR-200c-3p、miR-200c-5p、miR-290、miR-301a-3p、miR-301a-5p、miR-302a-3p、miR-302a-5p、miR-302b-3p、miR-302b-5p、miR-302c-3p、miR-302c-5p、miR-302d-3p、miR-302d-5p、miR-302e、miR-367-3p、miR-367-5p、miR-369-3p、miR-369-5p、miR-370、miR-371、miR-373、miR-380-5p、miR-423-3p、miR-423-5p、miR-486-5p、miR-520c-3p、miR-548e、miR-548f、miR-548g-3p、miR-548g-5p、miR-548i、miR-548k、miR-548l、miR-548m、miR-548n、miR-548o-3p、m

30

40

50

i R-548o-5p、mi R-548p、mi R-664a-3p、mi R-664a-5p、mi R-664b-3p、mi R-664b-5p、mi R-766-3p、mi R-766-5p、mi R-885-3p、mi R-885-5p、mi R-93-3p、mi R-93-5p、mi R-941、mi R-96-3p、mi R-96-5p、mi R-99b-3pおよびmi R-99b-5pが挙げられるが、これらに限定されない。多くの予測された新規マイクロRNAがヒト胚性幹細胞でのディープ配列決定によって発見されている (Morin RD et al., Genome Res, 2008, 18, 610-621; Goff LA et al., PLoS One, 2009, 4:e7192; Bar M et al., Stem cells, 2008, 26, 2496-2505, 各内容が参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。

10

【0326】

一実施形態において、胚性幹細胞特異的マイクロRNAの結合部位は、シグナルセンサーポリヌクレオチドの3-UTRに封入され、またはシグナルセンサーポリヌクレオチドの3-UTRから除去して、胚性幹細胞の発達および／もしくは分化を調節、変性状態の幹細胞の老化を阻害 (例えば、変性疾患)、または、疾患状態にある肝細胞 (例えばがん幹細胞) の老化およびアポトーシスを刺激し得る。

【0327】

様々ながん細胞／組織および他の疾患でのマイクロRNAの発現差異をプロファイリングするために、多くのマイクロRNA発現の研究がなされ、当該技術分野で説明されている。特定のがん細胞で異常に過剰発現されるマイクロRNAもあれば、過小発現されるマイクロRNAある。例えば、マイクロRNAはがん細胞 (国際公開第WO2008/154098号、米国特許第US2013/0059015号、米国特許第US2013/0042333号、国際公開第WO2011/157294号)、がん幹細胞 (米国特許第US2012/0053224号)、膵臓癌および疾患 (米国特許第US2009/0131348号、米国特許第US2011/0171646号、米国特許第US2010/0286232号、米国特許第US8389210号)、喘息および炎症 (米国特許第US8415096号)、前立腺癌 (米国特許第US2013/0053264号)、肝細胞癌 (国際公開第WO2012/151212号、米国特許第US2012/0329672号、国際公開第WO2008/054828号、米国特許第US8252538号)、肺癌細胞 (国際公開第WO2011/076143号、国際公開第WO2013/033640号、国際公開第WO2009/070653号、米国特許第US2010/0323357号)、皮膚T細胞リンパ腫 (国際公開第WO2013/011378号)、結腸直腸癌細胞 (国際公開第WO2011/0281756号、国際公開第WO2011/076142号)、癌陽性リンパ節 (国際公開第WO2009/100430号、米国特許第US2009/0263803号)、上咽頭癌 (欧州特許第EP2112235号)、慢性閉塞性肺疾患 (米国特許第US2012/0264626号、米国特許第US2013/0053263号)、甲状腺癌 (国際公開第WO2013/066678号)、卵巣癌細胞 (米国特許第US2012/0309645号、国際公開第WO2011/095623号)、乳癌細胞 (国際公開第WO2008/154098号、国際公開第WO2007/081740号、米国特許第US2012/0214699号)、白血病およびリンパ腫 (国際公開第WO2008/073915号、米国特許第US2009/0092974号、米国特許第US2012/0316081号、米国特許第US2012/0283310号、国際公開第WO2010/018563号、各内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる) で差次的に発現される。

20

30

40

【0328】

具体的には、特定のがんおよび／または腫瘍細胞で過剰発現されるマイクロRNA部位は、腫瘍学関連ポリペプチドをコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドの3'UTRから除去され得、がん細胞で過剰発現されるマイクロRNAによって抑制される発現を回復し、こうして、例えば、転写刺激および／または抑圧、細胞周期停止、アポトーシスならびに細胞死といった、対応する生物学的機能を改善する。マイクロRNA発現が上方

50

制御されない正常な細胞および組織は、影響を受けないままである。

【0329】

マイクロRNAはまた、血管新生といった複雑な生物学的プロセスを制御し得る（miR-132）（Anand and Cheresch Curr Opin Hematol 2011 18:171-176）。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドでは、シグナルセンサーポリヌクレオチド発現の発現を生物学的に関連のある細胞型または関連のある生物学的プロセスの文脈に合わせるために、そのようなプロセスに関連するマイクロRNAの結合部位を除去または導入し得る。この文脈において、シグナルセンサーポリヌクレオチドは栄養要求性シグナルセンサーポリヌクレオチドとして定義される。

10

【0330】

表9は、本発明と使用され得る、miRおよびmiR結合部位（miR BS）ならびにこれらの配列を包括的ではないが列挙したものである。

表9. MirおよびmiR結合部位

【表 0 0 0 9 - 1】

マイクロRNA	mir配列 番号	BS配列 番号	マイクロRNA	mir配列 番号	BS配列 番号
hsa-let-7a-2-3p	2508	3529	hsa-miR-4471	4550	5571
hsa-let-7a-3p	2509	3530	hsa-miR-4472	4551	5572
hsa-let-7a-5p	2510	3531	hsa-miR-4473	4552	5573
hsa-let-7b-3p	2511	3532	hsa-miR-4474-3p	4553	5574
hsa-let-7b-5p	2512	3533	hsa-miR-4474-5p	4554	5575
hsa-let-7c	2513	3534	hsa-miR-4475	4555	5576
hsa-let-7d-3p	2514	3535	hsa-miR-4476	4556	5577
hsa-let-7d-5p	2515	3536	hsa-miR-4477a	4557	5578
hsa-let-7e-3p	2516	3537	hsa-miR-4477b	4558	5579
hsa-let-7e-5p	2517	3538	hsa-miR-4478	4559	5580
hsa-let-7f-1-3p	2518	3539	hsa-miR-4479	4560	5581
hsa-let-7f-2-3p	2519	3540	hsa-miR-448	4561	5582
hsa-let-7f-5p	2520	3541	hsa-miR-4480	4562	5583
hsa-let-7g-3p	2521	3542	hsa-miR-4481	4563	5584
hsa-let-7g-5p	2522	3543	hsa-miR-4482-3p	4564	5585
hsa-let-7i-3p	2523	3544	hsa-miR-4482-5p	4565	5586
hsa-let-7i-5p	2524	3545	hsa-miR-4483	4566	5587
hsa-miR-1	2525	3546	hsa-miR-4484	4567	5588
hsa-miR-100-3p	2526	3547	hsa-miR-4485	4568	5589
hsa-miR-100-5p	2527	3548	hsa-miR-4486	4569	5590
hsa-miR-101-3p	2528	3549	hsa-miR-4487	4570	5591
hsa-miR-101-5p	2529	3550	hsa-miR-4488	4571	5592
hsa-miR-103a-2-5p	2530	3551	hsa-miR-4489	4572	5593
hsa-miR-103a-3p	2531	3552	hsa-miR-4490	4573	5594
hsa-miR-103b	2532	3553	hsa-miR-4491	4574	5595
hsa-miR-105-3p	2533	3554	hsa-miR-4492	4575	5596
hsa-miR-105-5p	2534	3555	hsa-miR-4493	4576	5597
hsa-miR-106a-3p	2535	3556	hsa-miR-4494	4577	5598
hsa-miR-106a-5p	2536	3557	hsa-miR-4495	4578	5599
hsa-miR-106b-3p	2537	3558	hsa-miR-4496	4579	5600
hsa-miR-106b-5p	2538	3559	hsa-miR-4497	4580	5601
hsa-miR-107	2539	3560	hsa-miR-4498	4581	5602
hsa-miR-10a-3p	2540	3561	hsa-miR-4499	4582	5603
hsa-miR-10a-5p	2541	3562	hsa-miR-449a	4583	5604
hsa-miR-10b-3p	2542	3563	hsa-miR-449b-3p	4584	5605
hsa-miR-10b-5p	2543	3564	hsa-miR-449b-5p	4585	5606
hsa-miR-1178-3p	2544	3565	hsa-miR-449c-3p	4586	5607
hsa-miR-1178-5p	2545	3566	hsa-miR-449c-5p	4587	5608
hsa-miR-1179	2546	3567	hsa-miR-4500	4588	5609
hsa-miR-1180	2547	3568	hsa-miR-4501	4589	5610
hsa-miR-1181	2548	3569	hsa-miR-4502	4590	5611
hsa-miR-1182	2549	3570	hsa-miR-4503	4591	5612
hsa-miR-1183	2550	3571	hsa-miR-4504	4592	5613
hsa-miR-1184	2551	3572	hsa-miR-4505	4593	5614
hsa-miR-1185-1-3p	2552	3573	hsa-miR-4506	4594	5615

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 2】

hsa-miR-1185-2-3p	2553	3574	hsa-miR-4507	4595	5616
hsa-miR-1185-5p	2554	3575	hsa-miR-4508	4596	5617
hsa-miR-1193	2555	3576	hsa-miR-4509	4597	5618
hsa-miR-1197	2556	3577	hsa-miR-450a-3p	4598	5619
hsa-miR-1200	2557	3578	hsa-miR-450a-5p	4599	5620
hsa-miR-1202	2558	3579	hsa-miR-450b-3p	4600	5621
hsa-miR-1203	2559	3580	hsa-miR-450b-5p	4601	5622
hsa-miR-1204	2560	3581	hsa-miR-4510	4602	5623
hsa-miR-1205	2561	3582	hsa-miR-4511	4603	5624
hsa-miR-1206	2562	3583	hsa-miR-4512	4604	5625
hsa-miR-1207-3p	2563	3584	hsa-miR-4513	4605	5626
hsa-miR-1207-5p	2564	3585	hsa-miR-4514	4606	5627
hsa-miR-1208	2565	3586	hsa-miR-4515	4607	5628
hsa-miR-122-3p	2566	3587	hsa-miR-4516	4608	5629
hsa-miR-1224-3p	2567	3588	hsa-miR-4517	4609	5630
hsa-miR-1224-5p	2568	3589	hsa-miR-4518	4610	5631
hsa-miR-1225-3p	2569	3590	hsa-miR-4519	4611	5632
hsa-miR-1225-5p	2570	3591	hsa-miR-451a	4612	5633
hsa-miR-122-5p	2571	3592	hsa-miR-451b	4613	5634
hsa-miR-1226-3p	2572	3593	hsa-miR-4520a-3p	4614	5635
hsa-miR-1226-5p	2573	3594	hsa-miR-4520a-5p	4615	5636
hsa-miR-1227-3p	2574	3595	hsa-miR-4520b-3p	4616	5637
hsa-miR-1227-5p	2575	3596	hsa-miR-4520b-5p	4617	5638
hsa-miR-1228-3p	2576	3597	hsa-miR-4521	4618	5639
hsa-miR-1228-5p	2577	3598	hsa-miR-4522	4619	5640
hsa-miR-1229-3p	2578	3599	hsa-miR-4523	4620	5641
hsa-miR-1229-5p	2579	3600	hsa-miR-452-3p	4621	5642
hsa-miR-1231	2580	3601	hsa-miR-4524a-3p	4622	5643
hsa-miR-1233-1-5p	2581	3602	hsa-miR-4524a-5p	4623	5644
hsa-miR-1233-3p	2582	3603	hsa-miR-4524b-3p	4624	5645
hsa-miR-1234-3p	2583	3604	hsa-miR-4524b-5p	4625	5646
hsa-miR-1234-5p	2584	3605	hsa-miR-4525	4626	5647
hsa-miR-1236-3p	2585	3606	hsa-miR-452-5p	4627	5648
hsa-miR-1236-5p	2586	3607	hsa-miR-4526	4628	5649
hsa-miR-1237-3p	2587	3608	hsa-miR-4527	4629	5650
hsa-miR-1237-5p	2588	3609	hsa-miR-4528	4630	5651
hsa-miR-1238-3p	2589	3610	hsa-miR-4529-3p	4631	5652
hsa-miR-1238-5p	2590	3611	hsa-miR-4529-5p	4632	5653
hsa-miR-1243	2591	3612	hsa-miR-4530	4633	5654
hsa-miR-124-3p	2592	3613	hsa-miR-4531	4634	5655
hsa-miR-1244	2593	3614	hsa-miR-4532	4635	5656
hsa-miR-1245a	2594	3615	hsa-miR-4533	4636	5657
hsa-miR-1245b-3p	2595	3616	hsa-miR-4534	4637	5658
hsa-miR-1245b-5p	2596	3617	hsa-miR-4535	4638	5659
hsa-miR-124-5p	2597	3618	hsa-miR-4536-3p	4639	5660
hsa-miR-1246	2598	3619	hsa-miR-4536-5p	4640	5661
hsa-miR-1247-3p	2599	3620	hsa-miR-4537	4641	5662

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 3】

hsa-miR-1247-5p	2600	3621	hsa-miR-4538	4642	5663
hsa-miR-1248	2601	3622	hsa-miR-4539	4643	5664
hsa-miR-1249	2602	3623	hsa-miR-4540	4644	5665
hsa-miR-1250	2603	3624	hsa-miR-454-3p	4645	5666
hsa-miR-1251	2604	3625	hsa-miR-454-5p	4646	5667
hsa-miR-1252	2605	3626	hsa-miR-455-3p	4647	5668
hsa-miR-1253	2606	3627	hsa-miR-455-5p	4648	5669
hsa-miR-1254	2607	3628	hsa-miR-4632-3p	4649	5670
hsa-miR-1255a	2608	3629	hsa-miR-4632-5p	4650	5671
hsa-miR-1255b-2-3p	2609	3630	hsa-miR-4633-3p	4651	5672
hsa-miR-1255b-5p	2610	3631	hsa-miR-4633-5p	4652	5673
hsa-miR-1256	2611	3632	hsa-miR-4634	4653	5674
hsa-miR-1257	2612	3633	hsa-miR-4635	4654	5675
hsa-miR-1258	2613	3634	hsa-miR-4636	4655	5676
hsa-miR-125a-3p	2614	3635	hsa-miR-4637	4656	5677
hsa-miR-125a-5p	2615	3636	hsa-miR-4638-3p	4657	5678
hsa-miR-125b-1-3p	2616	3637	hsa-miR-4638-5p	4658	5679
hsa-miR-125b-2-3p	2617	3638	hsa-miR-4639-3p	4659	5680
hsa-miR-125b-5p	2618	3639	hsa-miR-4639-5p	4660	5681
hsa-miR-1260a	2619	3640	hsa-miR-4640-3p	4661	5682
hsa-miR-1260b	2620	3641	hsa-miR-4640-5p	4662	5683
hsa-miR-1261	2621	3642	hsa-miR-4641	4663	5684
hsa-miR-1262	2622	3643	hsa-miR-4642	4664	5685
hsa-miR-1263	2623	3644	hsa-miR-4643	4665	5686
hsa-miR-126-3p	2624	3645	hsa-miR-4644	4666	5687
hsa-miR-1264	2625	3646	hsa-miR-4645-3p	4667	5688
hsa-miR-1265	2626	3647	hsa-miR-4645-5p	4668	5689
hsa-miR-126-5p	2627	3648	hsa-miR-4646-3p	4669	5690
hsa-miR-1266	2628	3649	hsa-miR-4646-5p	4670	5691
hsa-miR-1267	2629	3650	hsa-miR-4647	4671	5692
hsa-miR-1268a	2630	3651	hsa-miR-4648	4672	5693
hsa-miR-1268b	2631	3652	hsa-miR-4649-3p	4673	5694
hsa-miR-1269a	2632	3653	hsa-miR-4649-5p	4674	5695
hsa-miR-1269b	2633	3654	hsa-miR-4650-3p	4675	5696
hsa-miR-1270	2634	3655	hsa-miR-4650-5p	4676	5697
hsa-miR-1271-3p	2635	3656	hsa-miR-4651	4677	5698
hsa-miR-1271-5p	2636	3657	hsa-miR-4652-3p	4678	5699
hsa-miR-1272	2637	3658	hsa-miR-4652-5p	4679	5700
hsa-miR-1273a	2638	3659	hsa-miR-4653-3p	4680	5701
hsa-miR-1273c	2639	3660	hsa-miR-4653-5p	4681	5702
hsa-miR-1273d	2640	3661	hsa-miR-4654	4682	5703
hsa-miR-1273e	2641	3662	hsa-miR-4655-3p	4683	5704
hsa-miR-1273f	2642	3663	hsa-miR-4655-5p	4684	5705
hsa-miR-1273g-3p	2643	3664	hsa-miR-4656	4685	5706
hsa-miR-1273g-5p	2644	3665	hsa-miR-4657	4686	5707
hsa-miR-127-3p	2645	3666	hsa-miR-4658	4687	5708
hsa-miR-1275	2646	3667	hsa-miR-4659a-3p	4688	5709

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 4】

hsa-miR-127-5p	2647	3668	hsa-miR-4659a-5p	4689	5710
hsa-miR-1276	2648	3669	hsa-miR-4659b-3p	4690	5711
hsa-miR-1277-3p	2649	3670	hsa-miR-4659b-5p	4691	5712
hsa-miR-1277-5p	2650	3671	hsa-miR-466	4692	5713
hsa-miR-1278	2651	3672	hsa-miR-4660	4693	5714
hsa-miR-1279	2652	3673	hsa-miR-4661-3p	4694	5715
hsa-miR-128	2653	3674	hsa-miR-4661-5p	4695	5716
hsa-miR-1281	2654	3675	hsa-miR-4662a-3p	4696	5717
hsa-miR-1282	2655	3676	hsa-miR-4662a-5p	4697	5718
hsa-miR-1283	2656	3677	hsa-miR-4662b	4698	5719
hsa-miR-1284	2657	3678	hsa-miR-4663	4699	5720
hsa-miR-1285-3p	2658	3679	hsa-miR-4664-3p	4700	5721
hsa-miR-1285-5p	2659	3680	hsa-miR-4664-5p	4701	5722
hsa-miR-1286	2660	3681	hsa-miR-4665-3p	4702	5723
hsa-miR-1287	2661	3682	hsa-miR-4665-5p	4703	5724
hsa-miR-1288	2662	3683	hsa-miR-4666a-3p	4704	5725
hsa-miR-1289	2663	3684	hsa-miR-4666a-5p	4705	5726
hsa-miR-1290	2664	3685	hsa-miR-4666b	4706	5727
hsa-miR-1291	2665	3686	hsa-miR-4667-3p	4707	5728
hsa-miR-129-1-3p	2666	3687	hsa-miR-4667-5p	4708	5729
hsa-miR-1292-3p	2667	3688	hsa-miR-4668-3p	4709	5730
hsa-miR-129-2-3p	2668	3689	hsa-miR-4668-5p	4710	5731
hsa-miR-1292-5p	2669	3690	hsa-miR-4669	4711	5732
hsa-miR-1293	2670	3691	hsa-miR-4670-3p	4712	5733
hsa-miR-1294	2671	3692	hsa-miR-4670-5p	4713	5734
hsa-miR-1295a	2672	3693	hsa-miR-4671-3p	4714	5735
hsa-miR-1295b-3p	2673	3694	hsa-miR-4671-5p	4715	5736
hsa-miR-1295b-5p	2674	3695	hsa-miR-4672	4716	5737
hsa-miR-129-5p	2675	3696	hsa-miR-4673	4717	5738
hsa-miR-1296	2676	3697	hsa-miR-4674	4718	5739
hsa-miR-1297	2677	3698	hsa-miR-4675	4719	5740
hsa-miR-1298	2678	3699	hsa-miR-4676-3p	4720	5741
hsa-miR-1299	2679	3700	hsa-miR-4676-5p	4721	5742
hsa-miR-1301	2680	3701	hsa-miR-4677-3p	4722	5743
hsa-miR-1302	2681	3702	hsa-miR-4677-5p	4723	5744
hsa-miR-1303	2682	3703	hsa-miR-4678	4724	5745
hsa-miR-1304-3p	2683	3704	hsa-miR-4679	4725	5746
hsa-miR-1304-5p	2684	3705	hsa-miR-4680-3p	4726	5747
hsa-miR-1305	2685	3706	hsa-miR-4680-5p	4727	5748
hsa-miR-1306-3p	2686	3707	hsa-miR-4681	4728	5749
hsa-miR-1306-5p	2687	3708	hsa-miR-4682	4729	5750
hsa-miR-1307-3p	2688	3709	hsa-miR-4683	4730	5751
hsa-miR-1307-5p	2689	3710	hsa-miR-4684-3p	4731	5752
hsa-miR-130a-3p	2690	3711	hsa-miR-4684-5p	4732	5753
hsa-miR-130a-5p	2691	3712	hsa-miR-4685-3p	4733	5754
hsa-miR-130b-3p	2692	3713	hsa-miR-4685-5p	4734	5755
hsa-miR-130b-5p	2693	3714	hsa-miR-4686	4735	5756

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 5】

hsa-miR-1321	2694	3715	hsa-miR-4687-3p	4736	5757
hsa-miR-1322	2695	3716	hsa-miR-4687-5p	4737	5758
hsa-miR-1323	2696	3717	hsa-miR-4688	4738	5759
hsa-miR-132-3p	2697	3718	hsa-miR-4689	4739	5760
hsa-miR-1324	2698	3719	hsa-miR-4690-3p	4740	5761
hsa-miR-132-5p	2699	3720	hsa-miR-4690-5p	4741	5762
hsa-miR-133a	2700	3721	hsa-miR-4691-3p	4742	5763
hsa-miR-133b	2701	3722	hsa-miR-4691-5p	4743	5764
hsa-miR-134	2702	3723	hsa-miR-4692	4744	5765
hsa-miR-1343	2703	3724	hsa-miR-4693-3p	4745	5766
hsa-miR-135a-3p	2704	3725	hsa-miR-4693-5p	4746	5767
hsa-miR-135a-5p	2705	3726	hsa-miR-4694-3p	4747	5768
hsa-miR-135b-3p	2706	3727	hsa-miR-4694-5p	4748	5769
hsa-miR-135b-5p	2707	3728	hsa-miR-4695-3p	4749	5770
hsa-miR-136-3p	2708	3729	hsa-miR-4695-5p	4750	5771
hsa-miR-136-5p	2709	3730	hsa-miR-4696	4751	5772
hsa-miR-137	2710	3731	hsa-miR-4697-3p	4752	5773
hsa-miR-138-1-3p	2711	3732	hsa-miR-4697-5p	4753	5774
hsa-miR-138-2-3p	2712	3733	hsa-miR-4698	4754	5775
hsa-miR-138-5p	2713	3734	hsa-miR-4699-3p	4755	5776
hsa-miR-139-3p	2714	3735	hsa-miR-4699-5p	4756	5777
hsa-miR-139-5p	2715	3736	hsa-miR-4700-3p	4757	5778
hsa-miR-140-3p	2716	3737	hsa-miR-4700-5p	4758	5779
hsa-miR-140-5p	2717	3738	hsa-miR-4701-3p	4759	5780
hsa-miR-141-3p	2718	3739	hsa-miR-4701-5p	4760	5781
hsa-miR-141-5p	2719	3740	hsa-miR-4703-3p	4761	5782
hsa-miR-142-3p	2720	3741	hsa-miR-4703-5p	4762	5783
hsa-miR-142-5p	2721	3742	hsa-miR-4704-3p	4763	5784
hsa-miR-143-3p	2722	3743	hsa-miR-4704-5p	4764	5785
hsa-miR-143-5p	2723	3744	hsa-miR-4705	4765	5786
hsa-miR-144-3p	2724	3745	hsa-miR-4706	4766	5787
hsa-miR-144-5p	2725	3746	hsa-miR-4707-3p	4767	5788
hsa-miR-145-3p	2726	3747	hsa-miR-4707-5p	4768	5789
hsa-miR-145-5p	2727	3748	hsa-miR-4708-3p	4769	5790
hsa-miR-1468	2728	3749	hsa-miR-4708-5p	4770	5791
hsa-miR-1469	2729	3750	hsa-miR-4709-3p	4771	5792
hsa-miR-146a-3p	2730	3751	hsa-miR-4709-5p	4772	5793
hsa-miR-146a-5p	2731	3752	hsa-miR-4710	4773	5794
hsa-miR-146b-3p	2732	3753	hsa-miR-4711-3p	4774	5795
hsa-miR-146b-5p	2733	3754	hsa-miR-4711-5p	4775	5796
hsa-miR-1470	2734	3755	hsa-miR-4712-3p	4776	5797
hsa-miR-1471	2735	3756	hsa-miR-4712-5p	4777	5798
hsa-miR-147a	2736	3757	hsa-miR-4713-3p	4778	5799
hsa-miR-147b	2737	3758	hsa-miR-4713-5p	4779	5800
hsa-miR-148a-3p	2738	3759	hsa-miR-4714-3p	4780	5801
hsa-miR-148a-5p	2739	3760	hsa-miR-4714-5p	4781	5802
hsa-miR-148b-3p	2740	3761	hsa-miR-4715-3p	4782	5803

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 6】

hsa-miR-148b-5p	2741	3762	hsa-miR-4715-5p	4783	5804
hsa-miR-149-3p	2742	3763	hsa-miR-4716-3p	4784	5805
hsa-miR-149-5p	2743	3764	hsa-miR-4716-5p	4785	5806
hsa-miR-150-3p	2744	3765	hsa-miR-4717-3p	4786	5807
hsa-miR-150-5p	2745	3766	hsa-miR-4717-5p	4787	5808
hsa-miR-151a-3p	2746	3767	hsa-miR-4718	4788	5809
hsa-miR-151a-5p	2747	3768	hsa-miR-4719	4789	5810
hsa-miR-151b	2748	3769	hsa-miR-4720-3p	4790	5811
hsa-miR-152	2749	3770	hsa-miR-4720-5p	4791	5812
hsa-miR-153	2750	3771	hsa-miR-4721	4792	5813
hsa-miR-1537	2751	3772	hsa-miR-4722-3p	4793	5814
hsa-miR-1538	2752	3773	hsa-miR-4722-5p	4794	5815
hsa-miR-1539	2753	3774	hsa-miR-4723-3p	4795	5816
hsa-miR-154-3p	2754	3775	hsa-miR-4723-5p	4796	5817
hsa-miR-154-5p	2755	3776	hsa-miR-4724-3p	4797	5818
hsa-miR-155-3p	2756	3777	hsa-miR-4724-5p	4798	5819
hsa-miR-155-5p	2757	3778	hsa-miR-4725-3p	4799	5820
hsa-miR-1587	2758	3779	hsa-miR-4725-5p	4800	5821
hsa-miR-15a-3p	2759	3780	hsa-miR-4726-3p	4801	5822
hsa-miR-15a-5p	2760	3781	hsa-miR-4726-5p	4802	5823
hsa-miR-15b-3p	2761	3782	hsa-miR-4727-3p	4803	5824
hsa-miR-15b-5p	2762	3783	hsa-miR-4727-5p	4804	5825
hsa-miR-16-1-3p	2763	3784	hsa-miR-4728-3p	4805	5826
hsa-miR-16-2-3p	2764	3785	hsa-miR-4728-5p	4806	5827
hsa-miR-16-5p	2765	3786	hsa-miR-4729	4807	5828
hsa-miR-17-3p	2766	3787	hsa-miR-4730	4808	5829
hsa-miR-17-5p	2767	3788	hsa-miR-4731-3p	4809	5830
hsa-miR-181a-2-3p	2768	3789	hsa-miR-4731-5p	4810	5831
hsa-miR-181a-3p	2769	3790	hsa-miR-4732-3p	4811	5832
hsa-miR-181a-5p	2770	3791	hsa-miR-4732-5p	4812	5833
hsa-miR-181b-3p	2771	3792	hsa-miR-4733-3p	4813	5834
hsa-miR-181b-5p	2772	3793	hsa-miR-4733-5p	4814	5835
hsa-miR-181c-3p	2773	3794	hsa-miR-4734	4815	5836
hsa-miR-181c-5p	2774	3795	hsa-miR-4735-3p	4816	5837
hsa-miR-181d	2775	3796	hsa-miR-4735-5p	4817	5838
hsa-miR-182-3p	2776	3797	hsa-miR-4736	4818	5839
hsa-miR-1825	2777	3798	hsa-miR-4737	4819	5840
hsa-miR-182-5p	2778	3799	hsa-miR-4738-3p	4820	5841
hsa-miR-1827	2779	3800	hsa-miR-4738-5p	4821	5842
hsa-miR-183-3p	2780	3801	hsa-miR-4739	4822	5843
hsa-miR-183-5p	2781	3802	hsa-miR-4740-3p	4823	5844
hsa-miR-184	2782	3803	hsa-miR-4740-5p	4824	5845
hsa-miR-185-3p	2783	3804	hsa-miR-4741	4825	5846
hsa-miR-185-5p	2784	3805	hsa-miR-4742-3p	4826	5847
hsa-miR-186-3p	2785	3806	hsa-miR-4742-5p	4827	5848
hsa-miR-186-5p	2786	3807	hsa-miR-4743-3p	4828	5849
hsa-miR-187-3p	2787	3808	hsa-miR-4743-5p	4829	5850

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 7】

hsa-miR-187-5p	2788	3809	hsa-miR-4744	4830	5851
hsa-miR-188-3p	2789	3810	hsa-miR-4745-3p	4831	5852
hsa-miR-188-5p	2790	3811	hsa-miR-4745-5p	4832	5853
hsa-miR-18a-3p	2791	3812	hsa-miR-4746-3p	4833	5854
hsa-miR-18a-5p	2792	3813	hsa-miR-4746-5p	4834	5855
hsa-miR-18b-3p	2793	3814	hsa-miR-4747-3p	4835	5856
hsa-miR-18b-5p	2794	3815	hsa-miR-4747-5p	4836	5857
hsa-miR-1908	2795	3816	hsa-miR-4748	4837	5858
hsa-miR-1909-3p	2796	3817	hsa-miR-4749-3p	4838	5859
hsa-miR-1909-5p	2797	3818	hsa-miR-4749-5p	4839	5860
hsa-miR-190a	2798	3819	hsa-miR-4750-3p	4840	5861
hsa-miR-190b	2799	3820	hsa-miR-4750-5p	4841	5862
hsa-miR-1910	2800	3821	hsa-miR-4751	4842	5863
hsa-miR-1911-3p	2801	3822	hsa-miR-4752	4843	5864
hsa-miR-1911-5p	2802	3823	hsa-miR-4753-3p	4844	5865
hsa-miR-1912	2803	3824	hsa-miR-4753-5p	4845	5866
hsa-miR-1913	2804	3825	hsa-miR-4754	4846	5867
hsa-miR-191-3p	2805	3826	hsa-miR-4755-3p	4847	5868
hsa-miR-1914-3p	2806	3827	hsa-miR-4755-5p	4848	5869
hsa-miR-1914-5p	2807	3828	hsa-miR-4756-3p	4849	5870
hsa-miR-1915-3p	2808	3829	hsa-miR-4756-5p	4850	5871
hsa-miR-1915-5p	2809	3830	hsa-miR-4757-3p	4851	5872
hsa-miR-191-5p	2810	3831	hsa-miR-4757-5p	4852	5873
hsa-miR-192-3p	2811	3832	hsa-miR-4758-3p	4853	5874
hsa-miR-192-5p	2812	3833	hsa-miR-4758-5p	4854	5875
hsa-miR-193a-3p	2813	3834	hsa-miR-4759	4855	5876
hsa-miR-193a-5p	2814	3835	hsa-miR-4760-3p	4856	5877
hsa-miR-193b-3p	2815	3836	hsa-miR-4760-5p	4857	5878
hsa-miR-193b-5p	2816	3837	hsa-miR-4761-3p	4858	5879
hsa-miR-194-3p	2817	3838	hsa-miR-4761-5p	4859	5880
hsa-miR-194-5p	2818	3839	hsa-miR-4762-3p	4860	5881
hsa-miR-195-3p	2819	3840	hsa-miR-4762-5p	4861	5882
hsa-miR-195-5p	2820	3841	hsa-miR-4763-3p	4862	5883
hsa-miR-196a-3p	2821	3842	hsa-miR-4763-5p	4863	5884
hsa-miR-196a-5p	2822	3843	hsa-miR-4764-3p	4864	5885
hsa-miR-196b-3p	2823	3844	hsa-miR-4764-5p	4865	5886
hsa-miR-196b-5p	2824	3845	hsa-miR-4765	4866	5887
hsa-miR-1972	2825	3846	hsa-miR-4766-3p	4867	5888
hsa-miR-1973	2826	3847	hsa-miR-4766-5p	4868	5889
hsa-miR-197-3p	2827	3848	hsa-miR-4767	4869	5890
hsa-miR-197-5p	2828	3849	hsa-miR-4768-3p	4870	5891
hsa-miR-1976	2829	3850	hsa-miR-4768-5p	4871	5892
hsa-miR-198	2830	3851	hsa-miR-4769-3p	4872	5893
hsa-miR-199a-3p	2831	3852	hsa-miR-4769-5p	4873	5894
hsa-miR-199a-5p	2832	3853	hsa-miR-4770	4874	5895
hsa-miR-199b-3p	2833	3854	hsa-miR-4771	4875	5896
hsa-miR-199b-5p	2834	3855	hsa-miR-4772-3p	4876	5897

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 8】

hsa-miR-19a-3p	2835	3856	hsa-miR-4772-5p	4877	5898
hsa-miR-19a-5p	2836	3857	hsa-miR-4773	4878	5899
hsa-miR-19b-1-5p	2837	3858	hsa-miR-4774-3p	4879	5900
hsa-miR-19b-2-5p	2838	3859	hsa-miR-4774-5p	4880	5901
hsa-miR-19b-3p	2839	3860	hsa-miR-4775	4881	5902
hsa-miR-200a-3p	2840	3861	hsa-miR-4776-3p	4882	5903
hsa-miR-200a-5p	2841	3862	hsa-miR-4776-5p	4883	5904
hsa-miR-200b-3p	2842	3863	hsa-miR-4777-3p	4884	5905
hsa-miR-200b-5p	2843	3864	hsa-miR-4777-5p	4885	5906
hsa-miR-200c-3p	2844	3865	hsa-miR-4778-3p	4886	5907
hsa-miR-200c-5p	2845	3866	hsa-miR-4778-5p	4887	5908
hsa-miR-202-3p	2846	3867	hsa-miR-4779	4888	5909
hsa-miR-202-5p	2847	3868	hsa-miR-4780	4889	5910
hsa-miR-203a	2848	3869	hsa-miR-4781-3p	4890	5911
hsa-miR-203b-3p	2849	3870	hsa-miR-4781-5p	4891	5912
hsa-miR-203b-5p	2850	3871	hsa-miR-4782-3p	4892	5913
hsa-miR-204-3p	2851	3872	hsa-miR-4782-5p	4893	5914
hsa-miR-204-5p	2852	3873	hsa-miR-4783-3p	4894	5915
hsa-miR-2052	2853	3874	hsa-miR-4783-5p	4895	5916
hsa-miR-2053	2854	3875	hsa-miR-4784	4896	5917
hsa-miR-205-3p	2855	3876	hsa-miR-4785	4897	5918
hsa-miR-2054	2856	3877	hsa-miR-4786-3p	4898	5919
hsa-miR-205-5p	2857	3878	hsa-miR-4786-5p	4899	5920
hsa-miR-206	2858	3879	hsa-miR-4787-3p	4900	5921
hsa-miR-208a	2859	3880	hsa-miR-4787-5p	4901	5922
hsa-miR-208b	2860	3881	hsa-miR-4788	4902	5923
hsa-miR-20a-3p	2861	3882	hsa-miR-4789-3p	4903	5924
hsa-miR-20a-5p	2862	3883	hsa-miR-4789-5p	4904	5925
hsa-miR-20b-3p	2863	3884	hsa-miR-4790-3p	4905	5926
hsa-miR-20b-5p	2864	3885	hsa-miR-4790-5p	4906	5927
hsa-miR-210	2865	3886	hsa-miR-4791	4907	5928
hsa-miR-2110	2866	3887	hsa-miR-4792	4908	5929
hsa-miR-2113	2867	3888	hsa-miR-4793-3p	4909	5930
hsa-miR-211-3p	2868	3889	hsa-miR-4793-5p	4910	5931
hsa-miR-2114-3p	2869	3890	hsa-miR-4794	4911	5932
hsa-miR-2114-5p	2870	3891	hsa-miR-4795-3p	4912	5933
hsa-miR-2115-3p	2871	3892	hsa-miR-4795-5p	4913	5934
hsa-miR-2115-5p	2872	3893	hsa-miR-4796-3p	4914	5935
hsa-miR-211-5p	2873	3894	hsa-miR-4796-5p	4915	5936
hsa-miR-2116-3p	2874	3895	hsa-miR-4797-3p	4916	5937
hsa-miR-2116-5p	2875	3896	hsa-miR-4797-5p	4917	5938
hsa-miR-2117	2876	3897	hsa-miR-4798-3p	4918	5939
hsa-miR-212-3p	2877	3898	hsa-miR-4798-5p	4919	5940
hsa-miR-212-5p	2878	3899	hsa-miR-4799-3p	4920	5941
hsa-miR-21-3p	2879	3900	hsa-miR-4799-5p	4921	5942
hsa-miR-214-3p	2880	3901	hsa-miR-4800-3p	4922	5943
hsa-miR-214-5p	2881	3902	hsa-miR-4800-5p	4923	5944

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 9】

hsa-miR-215	2882	3903	hsa-miR-4801	4924	5945
hsa-miR-21-5p	2883	3904	hsa-miR-4802-3p	4925	5946
hsa-miR-216a-3p	2884	3905	hsa-miR-4802-5p	4926	5947
hsa-miR-216a-5p	2885	3906	hsa-miR-4803	4927	5948
hsa-miR-216b	2886	3907	hsa-miR-4804-3p	4928	5949
hsa-miR-217	2887	3908	hsa-miR-4804-5p	4929	5950
hsa-miR-218-1-3p	2888	3909	hsa-miR-483-3p	4930	5951
hsa-miR-218-2-3p	2889	3910	hsa-miR-483-5p	4931	5952
hsa-miR-218-5p	2890	3911	hsa-miR-484	4932	5953
hsa-miR-219-1-3p	2891	3912	hsa-miR-485-3p	4933	5954
hsa-miR-219-2-3p	2892	3913	hsa-miR-485-5p	4934	5955
hsa-miR-219-5p	2893	3914	hsa-miR-486-3p	4935	5956
hsa-miR-221-3p	2894	3915	hsa-miR-486-5p	4936	5957
hsa-miR-221-5p	2895	3916	hsa-miR-487a	4937	5958
hsa-miR-222-3p	2896	3917	hsa-miR-487b	4938	5959
hsa-miR-222-5p	2897	3918	hsa-miR-488-3p	4939	5960
hsa-miR-223-3p	2898	3919	hsa-miR-488-5p	4940	5961
hsa-miR-223-5p	2899	3920	hsa-miR-489	4941	5962
hsa-miR-22-3p	2900	3921	hsa-miR-490-3p	4942	5963
hsa-miR-224-3p	2901	3922	hsa-miR-490-5p	4943	5964
hsa-miR-224-5p	2902	3923	hsa-miR-491-3p	4944	5965
hsa-miR-22-5p	2903	3924	hsa-miR-491-5p	4945	5966
hsa-miR-2276	2904	3925	hsa-miR-492	4946	5967
hsa-miR-2277-3p	2905	3926	hsa-miR-493-3p	4947	5968
hsa-miR-2277-5p	2906	3927	hsa-miR-493-5p	4948	5969
hsa-miR-2278	2907	3928	hsa-miR-494	4949	5970
hsa-miR-2355-3p	2908	3929	hsa-miR-495-3p	4950	5971
hsa-miR-2355-5p	2909	3930	hsa-miR-495-5p	4951	5972
hsa-miR-2392	2910	3931	hsa-miR-496	4952	5973
hsa-miR-23a-3p	2911	3932	hsa-miR-497-3p	4953	5974
hsa-miR-23a-5p	2912	3933	hsa-miR-497-5p	4954	5975
hsa-miR-23b-3p	2913	3934	hsa-miR-498	4955	5976
hsa-miR-23b-5p	2914	3935	hsa-miR-4999-3p	4956	5977
hsa-miR-23c	2915	3936	hsa-miR-4999-5p	4957	5978
hsa-miR-24-1-5p	2916	3937	hsa-miR-499a-3p	4958	5979
hsa-miR-24-2-5p	2917	3938	hsa-miR-499a-5p	4959	5980
hsa-miR-24-3p	2918	3939	hsa-miR-499b-3p	4960	5981
hsa-miR-2467-3p	2919	3940	hsa-miR-499b-5p	4961	5982
hsa-miR-2467-5p	2920	3941	hsa-miR-5000-3p	4962	5983
hsa-miR-25-3p	2921	3942	hsa-miR-5000-5p	4963	5984
hsa-miR-25-5p	2922	3943	hsa-miR-5001-3p	4964	5985
hsa-miR-2681-3p	2923	3944	hsa-miR-5001-5p	4965	5986
hsa-miR-2681-5p	2924	3945	hsa-miR-5002-3p	4966	5987
hsa-miR-2682-3p	2925	3946	hsa-miR-5002-5p	4967	5988
hsa-miR-2682-5p	2926	3947	hsa-miR-5003-3p	4968	5989
hsa-miR-26a-1-3p	2927	3948	hsa-miR-5003-5p	4969	5990
hsa-miR-26a-2-3p	2928	3949	hsa-miR-5004-3p	4970	5991

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 1 0】

hsa-miR-26a-5p	2929	3950	hsa-miR-5004-5p	4971	5992
hsa-miR-26b-3p	2930	3951	hsa-miR-5006-3p	4972	5993
hsa-miR-26b-5p	2931	3952	hsa-miR-5006-5p	4973	5994
hsa-miR-27a-3p	2932	3953	hsa-miR-5007-3p	4974	5995
hsa-miR-27a-5p	2933	3954	hsa-miR-5007-5p	4975	5996
hsa-miR-27b-3p	2934	3955	hsa-miR-5008-3p	4976	5997
hsa-miR-27b-5p	2935	3956	hsa-miR-5008-5p	4977	5998
hsa-miR-28-3p	2936	3957	hsa-miR-5009-3p	4978	5999
hsa-miR-28-5p	2937	3958	hsa-miR-5009-5p	4979	6000
hsa-miR-2861	2938	3959	hsa-miR-500a-3p	4980	6001
hsa-miR-2909	2939	3960	hsa-miR-500a-5p	4981	6002
hsa-miR-296-3p	2940	3961	hsa-miR-500b	4982	6003
hsa-miR-2964a-3p	2941	3962	hsa-miR-5010-3p	4983	6004
hsa-miR-2964a-5p	2942	3963	hsa-miR-5010-5p	4984	6005
hsa-miR-296-5p	2943	3964	hsa-miR-5011-3p	4985	6006
hsa-miR-297	2944	3965	hsa-miR-5011-5p	4986	6007
hsa-miR-298	2945	3966	hsa-miR-501-3p	4987	6008
hsa-miR-299-3p	2946	3967	hsa-miR-501-5p	4988	6009
hsa-miR-299-5p	2947	3968	hsa-miR-502-3p	4989	6010
hsa-miR-29a-3p	2948	3969	hsa-miR-502-5p	4990	6011
hsa-miR-29a-5p	2949	3970	hsa-miR-503-3p	4991	6012
hsa-miR-29b-1-5p	2950	3971	hsa-miR-503-5p	4992	6013
hsa-miR-29b-2-5p	2951	3972	hsa-miR-504	4993	6014
hsa-miR-29b-3p	2952	3973	hsa-miR-5047	4994	6015
hsa-miR-29c-3p	2953	3974	hsa-miR-505-3p	4995	6016
hsa-miR-29c-5p	2954	3975	hsa-miR-505-5p	4996	6017
hsa-miR-300	2955	3976	hsa-miR-506-3p	4997	6018
hsa-miR-301a-3p	2956	3977	hsa-miR-506-5p	4998	6019
hsa-miR-301a-5p	2957	3978	hsa-miR-507	4999	6020
hsa-miR-301b	2958	3979	hsa-miR-508-3p	5000	6021
hsa-miR-302a-3p	2959	3980	hsa-miR-508-5p	5001	6022
hsa-miR-302a-5p	2960	3981	hsa-miR-5087	5002	6023
hsa-miR-302b-3p	2961	3982	hsa-miR-5088	5003	6024
hsa-miR-302b-5p	2962	3983	hsa-miR-5089-3p	5004	6025
hsa-miR-302c-3p	2963	3984	hsa-miR-5089-5p	5005	6026
hsa-miR-302c-5p	2964	3985	hsa-miR-5090	5006	6027
hsa-miR-302d-3p	2965	3986	hsa-miR-5091	5007	6028
hsa-miR-302d-5p	2966	3987	hsa-miR-5092	5008	6029
hsa-miR-302e	2967	3988	hsa-miR-5093	5009	6030
hsa-miR-302f	2968	3989	hsa-miR-509-3-5p	5010	6031
hsa-miR-3064-3p	2969	3990	hsa-miR-509-3p	5011	6032
hsa-miR-3064-5p	2970	3991	hsa-miR-5094	5012	6033
hsa-miR-3065-3p	2971	3992	hsa-miR-5095	5013	6034
hsa-miR-3065-5p	2972	3993	hsa-miR-509-5p	5014	6035
hsa-miR-3074-3p	2973	3994	hsa-miR-5096	5015	6036
hsa-miR-3074-5p	2974	3995	hsa-miR-510	5016	6037
hsa-miR-30a-3p	2975	3996	hsa-miR-5100	5017	6038

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 1 1】

hsa-miR-30a-5p	2976	3997	hsa-miR-511	5018	6039
hsa-miR-30b-3p	2977	3998	hsa-miR-512-3p	5019	6040
hsa-miR-30b-5p	2978	3999	hsa-miR-512-5p	5020	6041
hsa-miR-30c-1-3p	2979	4000	hsa-miR-513a-3p	5021	6042
hsa-miR-30c-2-3p	2980	4001	hsa-miR-513a-5p	5022	6043
hsa-miR-30c-5p	2981	4002	hsa-miR-513b	5023	6044
hsa-miR-30d-3p	2982	4003	hsa-miR-513c-3p	5024	6045
hsa-miR-30d-5p	2983	4004	hsa-miR-513c-5p	5025	6046
hsa-miR-30e-3p	2984	4005	hsa-miR-514a-3p	5026	6047
hsa-miR-30e-5p	2985	4006	hsa-miR-514a-5p	5027	6048
hsa-miR-3115	2986	4007	hsa-miR-514b-3p	5028	6049
hsa-miR-3116	2987	4008	hsa-miR-514b-5p	5029	6050
hsa-miR-3117-3p	2988	4009	hsa-miR-515-3p	5030	6051
hsa-miR-3117-5p	2989	4010	hsa-miR-515-5p	5031	6052
hsa-miR-3118	2990	4011	hsa-miR-516a-3p	5032	6053
hsa-miR-3119	2991	4012	hsa-miR-516a-5p	5033	6054
hsa-miR-3120-3p	2992	4013	hsa-miR-516b-3p	5034	6055
hsa-miR-3120-5p	2993	4014	hsa-miR-516b-5p	5035	6056
hsa-miR-3121-3p	2994	4015	hsa-miR-517-5p	5036	6057
hsa-miR-3121-5p	2995	4016	hsa-miR-517a-3p	5037	6058
hsa-miR-3122	2996	4017	hsa-miR-517b-3p	5038	6059
hsa-miR-3123	2997	4018	hsa-miR-517c-3p	5039	6060
hsa-miR-3124-3p	2998	4019	hsa-miR-5186	5040	6061
hsa-miR-3124-5p	2999	4020	hsa-miR-5187-3p	5041	6062
hsa-miR-3125	3000	4021	hsa-miR-5187-5p	5042	6063
hsa-miR-3126-3p	3001	4022	hsa-miR-5188	5043	6064
hsa-miR-3126-5p	3002	4023	hsa-miR-5189	5044	6065
hsa-miR-3127-3p	3003	4024	hsa-miR-518a-3p	5045	6066
hsa-miR-3127-5p	3004	4025	hsa-miR-518a-5p	5046	6067
hsa-miR-3128	3005	4026	hsa-miR-518b	5047	6068
hsa-miR-3129-3p	3006	4027	hsa-miR-518c-3p	5048	6069
hsa-miR-3129-5p	3007	4028	hsa-miR-518c-5p	5049	6070
hsa-miR-3130-3p	3008	4029	hsa-miR-518d-3p	5050	6071
hsa-miR-3130-5p	3009	4030	hsa-miR-518d-5p	5051	6072
hsa-miR-3131	3010	4031	hsa-miR-518e-3p	5052	6073
hsa-miR-3132	3011	4032	hsa-miR-518e-5p	5053	6074
hsa-miR-3133	3012	4033	hsa-miR-518f-3p	5054	6075
hsa-miR-3134	3013	4034	hsa-miR-518f-5p	5055	6076
hsa-miR-3135a	3014	4035	hsa-miR-5190	5056	6077
hsa-miR-3135b	3015	4036	hsa-miR-5191	5057	6078
hsa-miR-3136-3p	3016	4037	hsa-miR-5192	5058	6079
hsa-miR-3136-5p	3017	4038	hsa-miR-5193	5059	6080
hsa-miR-3137	3018	4039	hsa-miR-5194	5060	6081
hsa-miR-3138	3019	4040	hsa-miR-5195-3p	5061	6082
hsa-miR-3139	3020	4041	hsa-miR-5195-5p	5062	6083
hsa-miR-31-3p	3021	4042	hsa-miR-5196-3p	5063	6084
hsa-miR-3140-3p	3022	4043	hsa-miR-5196-5p	5064	6085

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 1 2】

hsa-miR-3140-5p	3023	4044	hsa-miR-5197-3p	5065	6086
hsa-miR-3141	3024	4045	hsa-miR-5197-5p	5066	6087
hsa-miR-3142	3025	4046	hsa-miR-519a-3p	5067	6088
hsa-miR-3143	3026	4047	hsa-miR-519a-5p	5068	6089
hsa-miR-3144-3p	3027	4048	hsa-miR-519b-3p	5069	6090
hsa-miR-3144-5p	3028	4049	hsa-miR-519b-5p	5070	6091
hsa-miR-3145-3p	3029	4050	hsa-miR-519c-3p	5071	6092
hsa-miR-3145-5p	3030	4051	hsa-miR-519c-5p	5072	6093
hsa-miR-3146	3031	4052	hsa-miR-519d	5073	6094
hsa-miR-3147	3032	4053	hsa-miR-519e-3p	5074	6095
hsa-miR-3148	3033	4054	hsa-miR-519e-5p	5075	6096
hsa-miR-3149	3034	4055	hsa-miR-520a-3p	5076	6097
hsa-miR-3150a-3p	3035	4056	hsa-miR-520a-5p	5077	6098
hsa-miR-3150a-5p	3036	4057	hsa-miR-520b	5078	6099
hsa-miR-3150b-3p	3037	4058	hsa-miR-520c-3p	5079	6100
hsa-miR-3150b-5p	3038	4059	hsa-miR-520c-5p	5080	6101
hsa-miR-3151	3039	4060	hsa-miR-520d-3p	5081	6102
hsa-miR-3152-3p	3040	4061	hsa-miR-520d-5p	5082	6103
hsa-miR-3152-5p	3041	4062	hsa-miR-520e	5083	6104
hsa-miR-3153	3042	4063	hsa-miR-520f	5084	6105
hsa-miR-3154	3043	4064	hsa-miR-520g	5085	6106
hsa-miR-3155a	3044	4065	hsa-miR-520h	5086	6107
hsa-miR-3155b	3045	4066	hsa-miR-521	5087	6108
hsa-miR-3156-3p	3046	4067	hsa-miR-522-3p	5088	6109
hsa-miR-3156-5p	3047	4068	hsa-miR-522-5p	5089	6110
hsa-miR-3157-3p	3048	4069	hsa-miR-523-3p	5090	6111
hsa-miR-3157-5p	3049	4070	hsa-miR-523-5p	5091	6112
hsa-miR-3158-3p	3050	4071	hsa-miR-524-3p	5092	6113
hsa-miR-3158-5p	3051	4072	hsa-miR-524-5p	5093	6114
hsa-miR-3159	3052	4073	hsa-miR-525-3p	5094	6115
hsa-miR-31-5p	3053	4074	hsa-miR-525-5p	5095	6116
hsa-miR-3160-3p	3054	4075	hsa-miR-526a	5096	6117
hsa-miR-3160-5p	3055	4076	hsa-miR-526b-3p	5097	6118
hsa-miR-3161	3056	4077	hsa-miR-526b-5p	5098	6119
hsa-miR-3162-3p	3057	4078	hsa-miR-527	5099	6120
hsa-miR-3162-5p	3058	4079	hsa-miR-532-3p	5100	6121
hsa-miR-3163	3059	4080	hsa-miR-532-5p	5101	6122
hsa-miR-3164	3060	4081	hsa-miR-539-3p	5102	6123
hsa-miR-3165	3061	4082	hsa-miR-539-5p	5103	6124
hsa-miR-3166	3062	4083	hsa-miR-541-3p	5104	6125
hsa-miR-3167	3063	4084	hsa-miR-541-5p	5105	6126
hsa-miR-3168	3064	4085	hsa-miR-542-3p	5106	6127
hsa-miR-3169	3065	4086	hsa-miR-542-5p	5107	6128
hsa-miR-3170	3066	4087	hsa-miR-543	5108	6129
hsa-miR-3171	3067	4088	hsa-miR-544a	5109	6130
hsa-miR-3173-3p	3068	4089	hsa-miR-544b	5110	6131
hsa-miR-3173-5p	3069	4090	hsa-miR-545-3p	5111	6132

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 1 3】

hsa-miR-3174	3070	4091	hsa-miR-545-5p	5112	6133
hsa-miR-3175	3071	4092	hsa-miR-548	5113	6134
hsa-miR-3176	3072	4093	hsa-miR-548-3p	5114	6135
hsa-miR-3177-3p	3073	4094	hsa-miR-548-5p	5115	6136
hsa-miR-3177-5p	3074	4095	hsa-miR-548a	5116	6137
hsa-miR-3178	3075	4096	hsa-miR-548a-3p	5117	6138
hsa-miR-3179	3076	4097	hsa-miR-548a-5p	5118	6139
hsa-miR-3180	3077	4098	hsa-miR-548aa	5119	6140
hsa-miR-3180-3p	3078	4099	hsa-miR-548ab	5120	6141
hsa-miR-3180-5p	3079	4100	hsa-miR-548ac	5121	6142
hsa-miR-3181	3080	4101	hsa-miR-548ad	5122	6143
hsa-miR-3182	3081	4102	hsa-miR-548ae	5123	6144
hsa-miR-3183	3082	4103	hsa-miR-548ag	5124	6145
hsa-miR-3184-3p	3083	4104	hsa-miR-548ah-3p	5125	6146
hsa-miR-3184-5p	3084	4105	hsa-miR-548ah-5p	5126	6147
hsa-miR-3185	3085	4106	hsa-miR-548ai	5127	6148
hsa-miR-3186-3p	3086	4107	hsa-miR-548aj-3p	5128	6149
hsa-miR-3186-5p	3087	4108	hsa-miR-548aj-5p	5129	6150
hsa-miR-3187-3p	3088	4109	hsa-miR-548ak	5130	6151
hsa-miR-3187-5p	3089	4110	hsa-miR-548al	5131	6152
hsa-miR-3188	3090	4111	hsa-miR-548am-3p	5132	6153
hsa-miR-3189-3p	3091	4112	hsa-miR-548am-5p	5133	6154
hsa-miR-3189-5p	3092	4113	hsa-miR-548an	5134	6155
hsa-miR-3190-3p	3093	4114	hsa-miR-548ao-3p	5135	6156
hsa-miR-3190-5p	3094	4115	hsa-miR-548ao-5p	5136	6157
hsa-miR-3191-3p	3095	4116	hsa-miR-548ap-3p	5137	6158
hsa-miR-3191-5p	3096	4117	hsa-miR-548ap-5p	5138	6159
hsa-miR-3192	3097	4118	hsa-miR-548aq-3p	5139	6160
hsa-miR-3193	3098	4119	hsa-miR-548aq-5p	5140	6161
hsa-miR-3194-3p	3099	4120	hsa-miR-548ar-3p	5141	6162
hsa-miR-3194-5p	3100	4121	hsa-miR-548ar-5p	5142	6163
hsa-miR-3195	3101	4122	hsa-miR-548as-3p	5143	6164
hsa-miR-3196	3102	4123	hsa-miR-548as-5p	5144	6165
hsa-miR-3197	3103	4124	hsa-miR-548at-3p	5145	6166
hsa-miR-3198	3104	4125	hsa-miR-548at-5p	5146	6167
hsa-miR-3199	3105	4126	hsa-miR-548au-3p	5147	6168
hsa-miR-3200-3p	3106	4127	hsa-miR-548au-5p	5148	6169
hsa-miR-3200-5p	3107	4128	hsa-miR-548av-3p	5149	6170
hsa-miR-3201	3108	4129	hsa-miR-548av-5p	5150	6171
hsa-miR-3202	3109	4130	hsa-miR-548aw	5151	6172
hsa-miR-320a	3110	4131	hsa-miR-548ay-3p	5152	6173
hsa-miR-320b	3111	4132	hsa-miR-548ay-5p	5153	6174
hsa-miR-320c	3112	4133	hsa-miR-548az-3p	5154	6175
hsa-miR-320d	3113	4134	hsa-miR-548az-5p	5155	6176
hsa-miR-320e	3114	4135	hsa-miR-548b-3p	5156	6177
hsa-miR-323a-3p	3115	4136	hsa-miR-548b-5p	5157	6178
hsa-miR-323a-5p	3116	4137	hsa-miR-548c-3p	5158	6179

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 1 4】

hsa-miR-323b-3p	3117	4138	hsa-miR-548c-5p	5159	6180
hsa-miR-323b-5p	3118	4139	hsa-miR-548d-3p	5160	6181
hsa-miR-32-3p	3119	4140	hsa-miR-548d-5p	5161	6182
hsa-miR-324-3p	3120	4141	hsa-miR-548e	5162	6183
hsa-miR-324-5p	3121	4142	hsa-miR-548f	5163	6184
hsa-miR-325	3122	4143	hsa-miR-548g-3p	5164	6185
hsa-miR-32-5p	3123	4144	hsa-miR-548g-5p	5165	6186
hsa-miR-326	3124	4145	hsa-miR-548h-3p	5166	6187
hsa-miR-328	3125	4146	hsa-miR-548h-5p	5167	6188
hsa-miR-329	3126	4147	hsa-miR-548i	5168	6189
hsa-miR-330-3p	3127	4148	hsa-miR-548j	5169	6190
hsa-miR-330-5p	3128	4149	hsa-miR-548k	5170	6191
hsa-miR-331-3p	3129	4150	hsa-miR-548l	5171	6192
hsa-miR-331-5p	3130	4151	hsa-miR-548m	5172	6193
hsa-miR-335-3p	3131	4152	hsa-miR-548n	5173	6194
hsa-miR-335-5p	3132	4153	hsa-miR-548o-3p	5174	6195
hsa-miR-337-3p	3133	4154	hsa-miR-548o-5p	5175	6196
hsa-miR-337-5p	3134	4155	hsa-miR-548p	5176	6197
hsa-miR-338-3p	3135	4156	hsa-miR-548q	5177	6198
hsa-miR-338-5p	3136	4157	hsa-miR-548s	5178	6199
hsa-miR-339-3p	3137	4158	hsa-miR-548t-3p	5179	6200
hsa-miR-339-5p	3138	4159	hsa-miR-548t-5p	5180	6201
hsa-miR-33a-3p	3139	4160	hsa-miR-548u	5181	6202
hsa-miR-33a-5p	3140	4161	hsa-miR-548w	5182	6203
hsa-miR-33b-3p	3141	4162	hsa-miR-548y	5183	6204
hsa-miR-33b-5p	3142	4163	hsa-miR-548z	5184	6205
hsa-miR-340-3p	3143	4164	hsa-miR-549a	5185	6206
hsa-miR-340-5p	3144	4165	hsa-miR-550a-3-5p	5186	6207
hsa-miR-342-3p	3145	4166	hsa-miR-550a-3p	5187	6208
hsa-miR-342-5p	3146	4167	hsa-miR-550a-5p	5188	6209
hsa-miR-345-3p	3147	4168	hsa-miR-550b-2-5p	5189	6210
hsa-miR-345-5p	3148	4169	hsa-miR-550b-3p	5190	6211
hsa-miR-346	3149	4170	hsa-miR-551a	5191	6212
hsa-miR-34a-3p	3150	4171	hsa-miR-551b-3p	5192	6213
hsa-miR-34a-5p	3151	4172	hsa-miR-551b-5p	5193	6214
hsa-miR-34b-3p	3152	4173	hsa-miR-552	5194	6215
hsa-miR-34b-5p	3153	4174	hsa-miR-553	5195	6216
hsa-miR-34c-3p	3154	4175	hsa-miR-554	5196	6217
hsa-miR-34c-5p	3155	4176	hsa-miR-555	5197	6218
hsa-miR-3529-3p	3156	4177	hsa-miR-556-3p	5198	6219
hsa-miR-3529-5p	3157	4178	hsa-miR-556-5p	5199	6220
hsa-miR-3591-3p	3158	4179	hsa-miR-557	5200	6221
hsa-miR-3591-5p	3159	4180	hsa-miR-5571-3p	5201	6222
hsa-miR-3605-3p	3160	4181	hsa-miR-5571-5p	5202	6223
hsa-miR-3605-5p	3161	4182	hsa-miR-5572	5203	6224
hsa-miR-3606-3p	3162	4183	hsa-miR-5579-3p	5204	6225
hsa-miR-3606-5p	3163	4184	hsa-miR-5579-5p	5205	6226

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 1 5】

hsa-miR-3607-3p	3164	4185	hsa-miR-558	5206	6227
hsa-miR-3607-5p	3165	4186	hsa-miR-5580-3p	5207	6228
hsa-miR-3609	3166	4187	hsa-miR-5580-5p	5208	6229
hsa-miR-3610	3167	4188	hsa-miR-5581-3p	5209	6230
hsa-miR-3611	3168	4189	hsa-miR-5581-5p	5210	6231
hsa-miR-3612	3169	4190	hsa-miR-5582-3p	5211	6232
hsa-miR-3613-3p	3170	4191	hsa-miR-5582-5p	5212	6233
hsa-miR-3613-5p	3171	4192	hsa-miR-5583-3p	5213	6234
hsa-miR-361-3p	3172	4193	hsa-miR-5583-5p	5214	6235
hsa-miR-3614-3p	3173	4194	hsa-miR-5584-3p	5215	6236
hsa-miR-3614-5p	3174	4195	hsa-miR-5584-5p	5216	6237
hsa-miR-3615	3175	4196	hsa-miR-5585-3p	5217	6238
hsa-miR-361-5p	3176	4197	hsa-miR-5585-5p	5218	6239
hsa-miR-3616-3p	3177	4198	hsa-miR-5586-3p	5219	6240
hsa-miR-3616-5p	3178	4199	hsa-miR-5586-5p	5220	6241
hsa-miR-3617-3p	3179	4200	hsa-miR-5587-3p	5221	6242
hsa-miR-3617-5p	3180	4201	hsa-miR-5587-5p	5222	6243
hsa-miR-3618	3181	4202	hsa-miR-5588-3p	5223	6244
hsa-miR-3619-3p	3182	4203	hsa-miR-5588-5p	5224	6245
hsa-miR-3619-5p	3183	4204	hsa-miR-5589-3p	5225	6246
hsa-miR-3620-3p	3184	4205	hsa-miR-5589-5p	5226	6247
hsa-miR-3620-5p	3185	4206	hsa-miR-559	5227	6248
hsa-miR-3621	3186	4207	hsa-miR-5590-3p	5228	6249
hsa-miR-3622a-3p	3187	4208	hsa-miR-5590-5p	5229	6250
hsa-miR-3622a-5p	3188	4209	hsa-miR-5591-3p	5230	6251
hsa-miR-3622b-3p	3189	4210	hsa-miR-5591-5p	5231	6252
hsa-miR-3622b-5p	3190	4211	hsa-miR-561-3p	5232	6253
hsa-miR-362-3p	3191	4212	hsa-miR-561-5p	5233	6254
hsa-miR-362-5p	3192	4213	hsa-miR-562	5234	6255
hsa-miR-363-3p	3193	4214	hsa-miR-563	5235	6256
hsa-miR-363-5p	3194	4215	hsa-miR-564	5236	6257
hsa-miR-3646	3195	4216	hsa-miR-566	5237	6258
hsa-miR-3648	3196	4217	hsa-miR-567	5238	6259
hsa-miR-3649	3197	4218	hsa-miR-568	5239	6260
hsa-miR-3650	3198	4219	hsa-miR-5680	5240	6261
hsa-miR-3651	3199	4220	hsa-miR-5681a	5241	6262
hsa-miR-3652	3200	4221	hsa-miR-5681b	5242	6263
hsa-miR-3653	3201	4222	hsa-miR-5682	5243	6264
hsa-miR-3654	3202	4223	hsa-miR-5683	5244	6265
hsa-miR-3655	3203	4224	hsa-miR-5684	5245	6266
hsa-miR-3656	3204	4225	hsa-miR-5685	5246	6267
hsa-miR-3657	3205	4226	hsa-miR-5686	5247	6268
hsa-miR-3658	3206	4227	hsa-miR-5687	5248	6269
hsa-miR-3659	3207	4228	hsa-miR-5688	5249	6270
hsa-miR-365a-3p	3208	4229	hsa-miR-5689	5250	6271
hsa-miR-365a-5p	3209	4230	hsa-miR-569	5251	6272
hsa-miR-365b-3p	3210	4231	hsa-miR-5690	5252	6273

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 1 6】

hsa-miR-365b-5p	3211	4232	hsa-miR-5691	5253	6274
hsa-miR-3660	3212	4233	hsa-miR-5692a	5254	6275
hsa-miR-3661	3213	4234	hsa-miR-5692b	5255	6276
hsa-miR-3662	3214	4235	hsa-miR-5692c	5256	6277
hsa-miR-3663-3p	3215	4236	hsa-miR-5693	5257	6278
hsa-miR-3663-5p	3216	4237	hsa-miR-5694	5258	6279
hsa-miR-3664-3p	3217	4238	hsa-miR-5695	5259	6280
hsa-miR-3664-5p	3218	4239	hsa-miR-5696	5260	6281
hsa-miR-3665	3219	4240	hsa-miR-5697	5261	6282
hsa-miR-3666	3220	4241	hsa-miR-5698	5262	6283
hsa-miR-3667-3p	3221	4242	hsa-miR-5699	5263	6284
hsa-miR-3667-5p	3222	4243	hsa-miR-5700	5264	6285
hsa-miR-3668	3223	4244	hsa-miR-5701	5265	6286
hsa-miR-3669	3224	4245	hsa-miR-5702	5266	6287
hsa-miR-3670	3225	4246	hsa-miR-5703	5267	6288
hsa-miR-3671	3226	4247	hsa-miR-570-3p	5268	6289
hsa-miR-3672	3227	4248	hsa-miR-5704	5269	6290
hsa-miR-3673	3228	4249	hsa-miR-5705	5270	6291
hsa-miR-367-3p	3229	4250	hsa-miR-570-5p	5271	6292
hsa-miR-3674	3230	4251	hsa-miR-5706	5272	6293
hsa-miR-3675-3p	3231	4252	hsa-miR-5707	5273	6294
hsa-miR-3675-5p	3232	4253	hsa-miR-5708	5274	6295
hsa-miR-367-5p	3233	4254	hsa-miR-571	5275	6296
hsa-miR-3676-3p	3234	4255	hsa-miR-572	5276	6297
hsa-miR-3676-5p	3235	4256	hsa-miR-573	5277	6298
hsa-miR-3677-3p	3236	4257	hsa-miR-5739	5278	6299
hsa-miR-3677-5p	3237	4258	hsa-miR-574-3p	5279	6300
hsa-miR-3678-3p	3238	4259	hsa-miR-574-5p	5280	6301
hsa-miR-3678-5p	3239	4260	hsa-miR-575	5281	6302
hsa-miR-3679-3p	3240	4261	hsa-miR-576-3p	5282	6303
hsa-miR-3679-5p	3241	4262	hsa-miR-576-5p	5283	6304
hsa-miR-3680-3p	3242	4263	hsa-miR-577	5284	6305
hsa-miR-3680-5p	3243	4264	hsa-miR-578	5285	6306
hsa-miR-3681-3p	3244	4265	hsa-miR-5787	5286	6307
hsa-miR-3681-5p	3245	4266	hsa-miR-579	5287	6308
hsa-miR-3682-3p	3246	4267	hsa-miR-580	5288	6309
hsa-miR-3682-5p	3247	4268	hsa-miR-581	5289	6310
hsa-miR-3683	3248	4269	hsa-miR-582-3p	5290	6311
hsa-miR-3684	3249	4270	hsa-miR-582-5p	5291	6312
hsa-miR-3685	3250	4271	hsa-miR-583	5292	6313
hsa-miR-3686	3251	4272	hsa-miR-584-3p	5293	6314
hsa-miR-3687	3252	4273	hsa-miR-584-5p	5294	6315
hsa-miR-3688-3p	3253	4274	hsa-miR-585	5295	6316
hsa-miR-3688-5p	3254	4275	hsa-miR-586	5296	6317
hsa-miR-3689a-3p	3255	4276	hsa-miR-587	5297	6318
hsa-miR-3689a-5p	3256	4277	hsa-miR-588	5298	6319
hsa-miR-3689b-3p	3257	4278	hsa-miR-589-3p	5299	6320

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 1 7】

hsa-miR-3689b-5p	3258	4279	hsa-miR-589-5p	5300	6321
hsa-miR-3689c	3259	4280	hsa-miR-590-3p	5301	6322
hsa-miR-3689d	3260	4281	hsa-miR-590-5p	5302	6323
hsa-miR-3689e	3261	4282	hsa-miR-591	5303	6324
hsa-miR-3689f	3262	4283	hsa-miR-592	5304	6325
hsa-miR-3690	3263	4284	hsa-miR-593-3p	5305	6326
hsa-miR-3691-3p	3264	4285	hsa-miR-593-5p	5306	6327
hsa-miR-3691-5p	3265	4286	hsa-miR-595	5307	6328
hsa-miR-3692-3p	3266	4287	hsa-miR-596	5308	6329
hsa-miR-3692-5p	3267	4288	hsa-miR-597	5309	6330
hsa-miR-369-3p	3268	4289	hsa-miR-598	5310	6331
hsa-miR-369-5p	3269	4290	hsa-miR-599	5311	6332
hsa-miR-370	3270	4291	hsa-miR-600	5312	6333
hsa-miR-3713	3271	4292	hsa-miR-601	5313	6334
hsa-miR-3714	3272	4293	hsa-miR-602	5314	6335
hsa-miR-371a-3p	3273	4294	hsa-miR-603	5315	6336
hsa-miR-371a-5p	3274	4295	hsa-miR-604	5316	6337
hsa-miR-371b-3p	3275	4296	hsa-miR-605	5317	6338
hsa-miR-371b-5p	3276	4297	hsa-miR-606	5318	6339
hsa-miR-372	3277	4298	hsa-miR-6068	5319	6340
hsa-miR-373-3p	3278	4299	hsa-miR-6069	5320	6341
hsa-miR-373-5p	3279	4300	hsa-miR-607	5321	6342
hsa-miR-374a-3p	3280	4301	hsa-miR-6070	5322	6343
hsa-miR-374a-5p	3281	4302	hsa-miR-6071	5323	6344
hsa-miR-374b-3p	3282	4303	hsa-miR-6072	5324	6345
hsa-miR-374b-5p	3283	4304	hsa-miR-6073	5325	6346
hsa-miR-374c-3p	3284	4305	hsa-miR-6074	5326	6347
hsa-miR-374c-5p	3285	4306	hsa-miR-6075	5327	6348
hsa-miR-375	3286	4307	hsa-miR-6076	5328	6349
hsa-miR-376a-2-5p	3287	4308	hsa-miR-6077	5329	6350
hsa-miR-376a-3p	3288	4309	hsa-miR-6078	5330	6351
hsa-miR-376a-5p	3289	4310	hsa-miR-6079	5331	6352
hsa-miR-376b-3p	3290	4311	hsa-miR-608	5332	6353
hsa-miR-376b-5p	3291	4312	hsa-miR-6080	5333	6354
hsa-miR-376c-3p	3292	4313	hsa-miR-6081	5334	6355
hsa-miR-376c-5p	3293	4314	hsa-miR-6082	5335	6356
hsa-miR-377-3p	3294	4315	hsa-miR-6083	5336	6357
hsa-miR-377-5p	3295	4316	hsa-miR-6084	5337	6358
hsa-miR-378a-3p	3296	4317	hsa-miR-6085	5338	6359
hsa-miR-378a-5p	3297	4318	hsa-miR-6086	5339	6360
hsa-miR-378b	3298	4319	hsa-miR-6087	5340	6361
hsa-miR-378c	3299	4320	hsa-miR-6088	5341	6362
hsa-miR-378d	3300	4321	hsa-miR-6089	5342	6363
hsa-miR-378e	3301	4322	hsa-miR-609	5343	6364
hsa-miR-378f	3302	4323	hsa-miR-6090	5344	6365
hsa-miR-378g	3303	4324	hsa-miR-610	5345	6366
hsa-miR-378h	3304	4325	hsa-miR-611	5346	6367

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 1 8】

hsa-miR-378i	3305	4326	hsa-miR-612	5347	6368
hsa-miR-378j	3306	4327	hsa-miR-6124	5348	6369
hsa-miR-379-3p	3307	4328	hsa-miR-6125	5349	6370
hsa-miR-379-5p	3308	4329	hsa-miR-6126	5350	6371
hsa-miR-380-3p	3309	4330	hsa-miR-6127	5351	6372
hsa-miR-380-5p	3310	4331	hsa-miR-6128	5352	6373
hsa-miR-381-3p	3311	4332	hsa-miR-6129	5353	6374
hsa-miR-381-5p	3312	4333	hsa-miR-613	5354	6375
hsa-miR-382-3p	3313	4334	hsa-miR-6130	5355	6376
hsa-miR-382-5p	3314	4335	hsa-miR-6131	5356	6377
hsa-miR-383	3315	4336	hsa-miR-6132	5357	6378
hsa-miR-384	3316	4337	hsa-miR-6133	5358	6379
hsa-miR-3907	3317	4338	hsa-miR-6134	5359	6380
hsa-miR-3908	3318	4339	hsa-miR-614	5360	6381
hsa-miR-3909	3319	4340	hsa-miR-615-3p	5361	6382
hsa-miR-3910	3320	4341	hsa-miR-615-5p	5362	6383
hsa-miR-3911	3321	4342	hsa-miR-616-3p	5363	6384
hsa-miR-3912	3322	4343	hsa-miR-6165	5364	6385
hsa-miR-3913-3p	3323	4344	hsa-miR-616-5p	5365	6386
hsa-miR-3913-5p	3324	4345	hsa-miR-617	5366	6387
hsa-miR-3914	3325	4346	hsa-miR-618	5367	6388
hsa-miR-3915	3326	4347	hsa-miR-619	5368	6389
hsa-miR-3916	3327	4348	hsa-miR-620	5369	6390
hsa-miR-3917	3328	4349	hsa-miR-621	5370	6391
hsa-miR-3918	3329	4350	hsa-miR-622	5371	6392
hsa-miR-3919	3330	4351	hsa-miR-623	5372	6393
hsa-miR-3920	3331	4352	hsa-miR-624-3p	5373	6394
hsa-miR-3921	3332	4353	hsa-miR-624-5p	5374	6395
hsa-miR-3922-3p	3333	4354	hsa-miR-625-3p	5375	6396
hsa-miR-3922-5p	3334	4355	hsa-miR-625-5p	5376	6397
hsa-miR-3923	3335	4356	hsa-miR-626	5377	6398
hsa-miR-3924	3336	4357	hsa-miR-627	5378	6399
hsa-miR-3925-3p	3337	4358	hsa-miR-628-3p	5379	6400
hsa-miR-3925-5p	3338	4359	hsa-miR-628-5p	5380	6401
hsa-miR-3926	3339	4360	hsa-miR-629-3p	5381	6402
hsa-miR-3927-3p	3340	4361	hsa-miR-629-5p	5382	6403
hsa-miR-3927-5p	3341	4362	hsa-miR-630	5383	6404
hsa-miR-3928	3342	4363	hsa-miR-631	5384	6405
hsa-miR-3929	3343	4364	hsa-miR-632	5385	6406
hsa-miR-3934-3p	3344	4365	hsa-miR-633	5386	6407
hsa-miR-3934-5p	3345	4366	hsa-miR-634	5387	6408
hsa-miR-3935	3346	4367	hsa-miR-635	5388	6409
hsa-miR-3936	3347	4368	hsa-miR-636	5389	6410
hsa-miR-3937	3348	4369	hsa-miR-637	5390	6411
hsa-miR-3938	3349	4370	hsa-miR-638	5391	6412
hsa-miR-3939	3350	4371	hsa-miR-639	5392	6413
hsa-miR-3940-3p	3351	4372	hsa-miR-640	5393	6414

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 1 9】

hsa-miR-3940-5p	3352	4373	hsa-miR-641	5394	6415
hsa-miR-3941	3353	4374	hsa-miR-642a-3p	5395	6416
hsa-miR-3942-3p	3354	4375	hsa-miR-642a-5p	5396	6417
hsa-miR-3942-5p	3355	4376	hsa-miR-642b-3p	5397	6418
hsa-miR-3943	3356	4377	hsa-miR-642b-5p	5398	6419
hsa-miR-3944-3p	3357	4378	hsa-miR-643	5399	6420
hsa-miR-3944-5p	3358	4379	hsa-miR-644a	5400	6421
hsa-miR-3945	3359	4380	hsa-miR-645	5401	6422
hsa-miR-3960	3360	4381	hsa-miR-646	5402	6423
hsa-miR-3972	3361	4382	hsa-miR-647	5403	6424
hsa-miR-3973	3362	4383	hsa-miR-648	5404	6425
hsa-miR-3974	3363	4384	hsa-miR-649	5405	6426
hsa-miR-3975	3364	4385	hsa-miR-6499-3p	5406	6427
hsa-miR-3976	3365	4386	hsa-miR-6499-5p	5407	6428
hsa-miR-3977	3366	4387	hsa-miR-650	5408	6429
hsa-miR-3978	3367	4388	hsa-miR-6500-3p	5409	6430
hsa-miR-409-3p	3368	4389	hsa-miR-6500-5p	5410	6431
hsa-miR-409-5p	3369	4390	hsa-miR-6501-3p	5411	6432
hsa-miR-410	3370	4391	hsa-miR-6501-5p	5412	6433
hsa-miR-411-3p	3371	4392	hsa-miR-6502-3p	5413	6434
hsa-miR-411-5p	3372	4393	hsa-miR-6502-5p	5414	6435
hsa-miR-412	3373	4394	hsa-miR-6503-3p	5415	6436
hsa-miR-421	3374	4395	hsa-miR-6503-5p	5416	6437
hsa-miR-422a	3375	4396	hsa-miR-6504-3p	5417	6438
hsa-miR-423-3p	3376	4397	hsa-miR-6504-5p	5418	6439
hsa-miR-423-5p	3377	4398	hsa-miR-6505-3p	5419	6440
hsa-miR-424-3p	3378	4399	hsa-miR-6505-5p	5420	6441
hsa-miR-424-5p	3379	4400	hsa-miR-6506-3p	5421	6442
hsa-miR-4251	3380	4401	hsa-miR-6506-5p	5422	6443
hsa-miR-4252	3381	4402	hsa-miR-6507-3p	5423	6444
hsa-miR-4253	3382	4403	hsa-miR-6507-5p	5424	6445
hsa-miR-425-3p	3383	4404	hsa-miR-6508-3p	5425	6446
hsa-miR-4254	3384	4405	hsa-miR-6508-5p	5426	6447
hsa-miR-4255	3385	4406	hsa-miR-6509-3p	5427	6448
hsa-miR-425-5p	3386	4407	hsa-miR-6509-5p	5428	6449
hsa-miR-4256	3387	4408	hsa-miR-651	5429	6450
hsa-miR-4257	3388	4409	hsa-miR-6510-3p	5430	6451
hsa-miR-4258	3389	4410	hsa-miR-6510-5p	5431	6452
hsa-miR-4259	3390	4411	hsa-miR-6511a-3p	5432	6453
hsa-miR-4260	3391	4412	hsa-miR-6511a-5p	5433	6454
hsa-miR-4261	3392	4413	hsa-miR-6511b-3p	5434	6455
hsa-miR-4262	3393	4414	hsa-miR-6511b-5p	5435	6456
hsa-miR-4263	3394	4415	hsa-miR-6512-3p	5436	6457
hsa-miR-4264	3395	4416	hsa-miR-6512-5p	5437	6458
hsa-miR-4265	3396	4417	hsa-miR-6513-3p	5438	6459
hsa-miR-4266	3397	4418	hsa-miR-6513-5p	5439	6460
hsa-miR-4267	3398	4419	hsa-miR-6514-3p	5440	6461

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 2 0】

hsa-miR-4268	3399	4420	hsa-miR-6514-5p	5441	6462
hsa-miR-4269	3400	4421	hsa-miR-6515-3p	5442	6463
hsa-miR-4270	3401	4422	hsa-miR-6515-5p	5443	6464
hsa-miR-4271	3402	4423	hsa-miR-652-3p	5444	6465
hsa-miR-4272	3403	4424	hsa-miR-652-5p	5445	6466
hsa-miR-4273	3404	4425	hsa-miR-653	5446	6467
hsa-miR-4274	3405	4426	hsa-miR-654-3p	5447	6468
hsa-miR-4275	3406	4427	hsa-miR-654-5p	5448	6469
hsa-miR-4276	3407	4428	hsa-miR-655	5449	6470
hsa-miR-4277	3408	4429	hsa-miR-656	5450	6471
hsa-miR-4278	3409	4430	hsa-miR-657	5451	6472
hsa-miR-4279	3410	4431	hsa-miR-658	5452	6473
hsa-miR-4280	3411	4432	hsa-miR-659-3p	5453	6474
hsa-miR-4281	3412	4433	hsa-miR-659-5p	5454	6475
hsa-miR-4282	3413	4434	hsa-miR-660-3p	5455	6476
hsa-miR-4283	3414	4435	hsa-miR-660-5p	5456	6477
hsa-miR-4284	3415	4436	hsa-miR-661	5457	6478
hsa-miR-4285	3416	4437	hsa-miR-662	5458	6479
hsa-miR-4286	3417	4438	hsa-miR-663a	5459	6480
hsa-miR-4287	3418	4439	hsa-miR-663b	5460	6481
hsa-miR-4288	3419	4440	hsa-miR-664a-3p	5461	6482
hsa-miR-4289	3420	4441	hsa-miR-664a-5p	5462	6483
hsa-miR-429	3421	4442	hsa-miR-664b-3p	5463	6484
hsa-miR-4290	3422	4443	hsa-miR-664b-5p	5464	6485
hsa-miR-4291	3423	4444	hsa-miR-665	5465	6486
hsa-miR-4292	3424	4445	hsa-miR-668	5466	6487
hsa-miR-4293	3425	4446	hsa-miR-670	5467	6488
hsa-miR-4294	3426	4447	hsa-miR-671-3p	5468	6489
hsa-miR-4295	3427	4448	hsa-miR-6715a-3p	5469	6490
hsa-miR-4296	3428	4449	hsa-miR-6715b-3p	5470	6491
hsa-miR-4297	3429	4450	hsa-miR-6715b-5p	5471	6492
hsa-miR-4298	3430	4451	hsa-miR-671-5p	5472	6493
hsa-miR-4299	3431	4452	hsa-miR-6716-3p	5473	6494
hsa-miR-4300	3432	4453	hsa-miR-6716-5p	5474	6495
hsa-miR-4301	3433	4454	hsa-miR-6717-5p	5475	6496
hsa-miR-4302	3434	4455	hsa-miR-6718-5p	5476	6497
hsa-miR-4303	3435	4456	hsa-miR-6719-3p	5477	6498
hsa-miR-4304	3436	4457	hsa-miR-6720-3p	5478	6499
hsa-miR-4305	3437	4458	hsa-miR-6721-5p	5479	6500
hsa-miR-4306	3438	4459	hsa-miR-6722-3p	5480	6501
hsa-miR-4307	3439	4460	hsa-miR-6722-5p	5481	6502
hsa-miR-4308	3440	4461	hsa-miR-6723-5p	5482	6503
hsa-miR-4309	3441	4462	hsa-miR-6724-5p	5483	6504
hsa-miR-4310	3442	4463	hsa-miR-675-3p	5484	6505
hsa-miR-4311	3443	4464	hsa-miR-675-5p	5485	6506
hsa-miR-4312	3444	4465	hsa-miR-676-3p	5486	6507
hsa-miR-4313	3445	4466	hsa-miR-676-5p	5487	6508

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 2 1】

hsa-miR-431-3p	3446	4467	hsa-miR-708-3p	5488	6509
hsa-miR-4314	3447	4468	hsa-miR-708-5p	5489	6510
hsa-miR-4315	3448	4469	hsa-miR-711	5490	6511
hsa-miR-431-5p	3449	4470	hsa-miR-7-1-3p	5491	6512
hsa-miR-4316	3450	4471	hsa-miR-718	5492	6513
hsa-miR-4317	3451	4472	hsa-miR-7-2-3p	5493	6514
hsa-miR-4318	3452	4473	hsa-miR-744-3p	5494	6515
hsa-miR-4319	3453	4474	hsa-miR-744-5p	5495	6516
hsa-miR-4320	3454	4475	hsa-miR-758-3p	5496	6517
hsa-miR-4321	3455	4476	hsa-miR-758-5p	5497	6518
hsa-miR-4322	3456	4477	hsa-miR-759	5498	6519
hsa-miR-4323	3457	4478	hsa-miR-7-5p	5499	6520
hsa-miR-432-3p	3458	4479	hsa-miR-760	5500	6521
hsa-miR-4324	3459	4480	hsa-miR-761	5501	6522
hsa-miR-4325	3460	4481	hsa-miR-762	5502	6523
hsa-miR-432-5p	3461	4482	hsa-miR-764	5503	6524
hsa-miR-4326	3462	4483	hsa-miR-765	5504	6525
hsa-miR-4327	3463	4484	hsa-miR-766-3p	5505	6526
hsa-miR-4328	3464	4485	hsa-miR-766-5p	5506	6527
hsa-miR-4329	3465	4486	hsa-miR-767-3p	5507	6528
hsa-miR-433	3466	4487	hsa-miR-767-5p	5508	6529
hsa-miR-4330	3467	4488	hsa-miR-769-3p	5509	6530
hsa-miR-4417	3468	4489	hsa-miR-769-5p	5510	6531
hsa-miR-4418	3469	4490	hsa-miR-770-5p	5511	6532
hsa-miR-4419a	3470	4491	hsa-miR-802	5512	6533
hsa-miR-4419b	3471	4492	hsa-miR-873-3p	5513	6534
hsa-miR-4420	3472	4493	hsa-miR-873-5p	5514	6535
hsa-miR-4421	3473	4494	hsa-miR-874	5515	6536
hsa-miR-4422	3474	4495	hsa-miR-875-3p	5516	6537
hsa-miR-4423-3p	3475	4496	hsa-miR-875-5p	5517	6538
hsa-miR-4423-5p	3476	4497	hsa-miR-876-3p	5518	6539
hsa-miR-4424	3477	4498	hsa-miR-876-5p	5519	6540
hsa-miR-4425	3478	4499	hsa-miR-877-3p	5520	6541
hsa-miR-4426	3479	4500	hsa-miR-877-5p	5521	6542
hsa-miR-4427	3480	4501	hsa-miR-885-3p	5522	6543
hsa-miR-4428	3481	4502	hsa-miR-885-5p	5523	6544
hsa-miR-4429	3482	4503	hsa-miR-887	5524	6545
hsa-miR-4430	3483	4504	hsa-miR-888-3p	5525	6546
hsa-miR-4431	3484	4505	hsa-miR-888-5p	5526	6547
hsa-miR-4432	3485	4506	hsa-miR-889	5527	6548
hsa-miR-4433-3p	3486	4507	hsa-miR-890	5528	6549
hsa-miR-4433-5p	3487	4508	hsa-miR-891a	5529	6550
hsa-miR-4434	3488	4509	hsa-miR-891b	5530	6551
hsa-miR-4435	3489	4510	hsa-miR-892a	5531	6552
hsa-miR-4436a	3490	4511	hsa-miR-892b	5532	6553
hsa-miR-4436b-3p	3491	4512	hsa-miR-892c-3p	5533	6554
hsa-miR-4436b-5p	3492	4513	hsa-miR-892c-5p	5534	6555

10

20

30

【表 0 0 0 9 - 2 2】

hsa-miR-4437	3493	4514	hsa-miR-920	5535	6556
hsa-miR-4438	3494	4515	hsa-miR-921	5536	6557
hsa-miR-4439	3495	4516	hsa-miR-922	5537	6558
hsa-miR-4440	3496	4517	hsa-miR-924	5538	6559
hsa-miR-4441	3497	4518	hsa-miR-92a-1-5p	5539	6560
hsa-miR-4442	3498	4519	hsa-miR-92a-2-5p	5540	6561
hsa-miR-4443	3499	4520	hsa-miR-92a-3p	5541	6562
hsa-miR-4444	3500	4521	hsa-miR-92b-3p	5542	6563
hsa-miR-4445-3p	3501	4522	hsa-miR-92b-5p	5543	6564
hsa-miR-4445-5p	3502	4523	hsa-miR-933	5544	6565
hsa-miR-4446-3p	3503	4524	hsa-miR-93-3p	5545	6566
hsa-miR-4446-5p	3504	4525	hsa-miR-934	5546	6567
hsa-miR-4447	3505	4526	hsa-miR-935	5547	6568
hsa-miR-4448	3506	4527	hsa-miR-93-5p	5548	6569
hsa-miR-4449	3507	4528	hsa-miR-936	5549	6570
hsa-miR-4450	3508	4529	hsa-miR-937-3p	5550	6571
hsa-miR-4451	3509	4530	hsa-miR-937-5p	5551	6572
hsa-miR-4452	3510	4531	hsa-miR-938	5552	6573
hsa-miR-4453	3511	4532	hsa-miR-939-3p	5553	6574
hsa-miR-4454	3512	4533	hsa-miR-939-5p	5554	6575
hsa-miR-4455	3513	4534	hsa-miR-9-3p	5555	6576
hsa-miR-4456	3514	4535	hsa-miR-940	5556	6577
hsa-miR-4457	3515	4536	hsa-miR-941	5557	6578
hsa-miR-4458	3516	4537	hsa-miR-942	5558	6579
hsa-miR-4459	3517	4538	hsa-miR-943	5559	6580
hsa-miR-4460	3518	4539	hsa-miR-944	5560	6581
hsa-miR-4461	3519	4540	hsa-miR-95	5561	6582
hsa-miR-4462	3520	4541	hsa-miR-9-5p	5562	6583
hsa-miR-4463	3521	4542	hsa-miR-96-3p	5563	6584
hsa-miR-4464	3522	4543	hsa-miR-96-5p	5564	6585
hsa-miR-4465	3523	4544	hsa-miR-98-3p	5565	6586
hsa-miR-4466	3524	4545	hsa-miR-98-5p	5566	6587
hsa-miR-4467	3525	4546	hsa-miR-99a-3p	5567	6588
hsa-miR-4468	3526	4547	hsa-miR-99a-5p	5568	6589
hsa-miR-4469	3527	4548	hsa-miR-99b-3p	5569	6590
hsa-miR-4470	3528	4549	hsa-miR-99b-5p	5570	6591

10

20

30

【0 3 3 1】

表 10 に示される通り、マイクロ RNA は異なる組織および細胞で差次的に発現され、しばしば異なる種類の疾患に関連する（例えばがん細胞）。マイクロ RNA 結合部位の除去もしくは挿入またはいずれかの組み合わせの決定は、がん細胞におけるマイクロ RNA 発現パターンおよびそのプロファイリング次第である。表 10 では、「HCC」は肝細胞癌を意味し、「ALL」は急性リンパ性白血病を意味し、「RCC」は腎臓細胞癌を意味し、「CLL」は慢性リンパ球白血病を意味し、「MALT」は粘膜内リンパ組織を意味する。

表 10. m i r s、組織／細胞発現および疾患

40

【表 0 0 1 0 - 1】

マイクロRNA	mir配 列番号	BS配 列番号	組織/細胞	関連疾患	生物学的機能
hsa-let-7a-2-3p	2508	3529	胚幹細胞,肺,骨髓 系細胞	炎症,様々なが ん(肺癌,子宮頸 癌,乳癌,膀胱癌な ど)	腫瘍抑制因子
hsa-let-7a-3p	2509	3530	胚幹細胞,肺	炎症,様々なが ん(肺癌,子宮頸 癌,乳癌,膀胱癌な ど)	腫瘍抑制因子
hsa-let-7a-5p	2510	3531	胚幹細胞,肺	炎症,様々なが ん(肺癌,子宮頸 癌,乳癌,膀胱癌な ど)	腫瘍抑制因子
hsa-let-7b-3p	2511	3532	上皮細胞, 内皮細胞(血管)	肺癌,結腸直腸 癌,子宮頸癌,感 染後の炎症およ び免疫応答	腫瘍血管新生
hsa-let-7b-5p	2512	3533	上皮細胞, 内皮細胞 (血管)	子宮頸癌,感染 後の炎症および 免疫応答	腫瘍血管新生
hsa-let-7c	2513	3534	樹状細胞	様々ながん(子 宮頸癌,膀胱癌,肺 癌,食道癌など)	腫瘍抑制因子, アポトーシス
hsa-let-7d-3p	2514	3535	胚幹細胞	様々ながん細胞 に関連	腫瘍抑制因子
hsa-let-7d-5p	2515	3536	胚幹細胞	様々ながん細胞 に関連	腫瘍抑制因子
hsa-let-7e-3p	2516	3537	免疫細胞	様々ながん細 胞,自己免疫,エ ンドトキシン耐 性	腫瘍抑制因子
hsa-let-7e-5p	2517	3538	免疫細胞	様々ながん細胞	腫瘍抑制因子
hsa-let-7f-1-3p	2518	3539	免疫細胞(T細胞)	様々ながん細胞	腫瘍抑制因子
hsa-let-7f-2-3p	2519	3540	免疫細胞(T細胞)	様々ながん細胞	腫瘍抑制因子
hsa-let-7f-5p	2520	3541	免疫細胞(T細胞)	様々ながん細胞	腫瘍抑制因子
hsa-let-7g-3p	2521	3542	造血細胞,脂肪,平 滑筋細胞	様々ながん細胞 (肺癌,乳癌など)	腫瘍抑制因子
hsa-let-7g-5p	2522	3543	造血細胞,脂肪,平 滑筋細胞	様々ながん細胞 (肺癌,乳癌など)	腫瘍抑制因子
hsa-let-7i-3p	2523	3544	免疫細胞	慢性リンパ性白 血病	腫瘍抑制因子
hsa-let-7i-5p	2524	3545	免疫細胞	慢性リンパ性白 血病	腫瘍抑制因子
hsa-miR-1	2525	3546	筋肉,心臓		血管新生,細胞 増殖(筋形成)

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 2】

hsa-miR-100-3p	2526	3547	造血細胞,内皮細胞	胃癌,膵癌	腫瘍血管新生
hsa-miR-100-5p	2527	3548	造血細胞,内皮細胞	胃癌,膵癌	腫瘍血管新生
hsa-miR-101-3p	2528	3549	内皮細胞	様々ながん(乳癌,非小細胞肺癌,大腸癌,胃癌,膵癌,膀胱癌など);エリテマトーデス,	血管新生
hsa-miR-101-5p	2529	3550	内皮細胞	様々ながん(乳癌,非小細胞肺癌,大腸癌,胃癌,膵癌,膀胱癌など);エリテマトーデス,	血管新生
hsa-miR-103a-2-5p	2530	3551	胚幹細胞,多くの組織/細胞	様々ながん(子宮内膜癌,神経芽細胞腫,結腸直腸癌,乳癌,肝臓癌など)	癌遺伝子,細胞成長
hsa-miR-103a-3p	2531	3552	胚幹細胞,多くの組織/細胞	様々ながん(子宮内膜癌,神経芽細胞腫,結腸直腸癌,乳癌,肝臓癌など)	癌遺伝子,細胞成長
hsa-miR-103b	2532	3553	多くの組織/細胞	様々ながん(子宮内膜癌,神経芽細胞腫,結腸直腸癌,乳癌,肝臓癌など)	癌遺伝子,細胞成長
hsa-miR-105-3p	2533	3554	膵臓細胞		
hsa-miR-105-5p	2534	3555	膵臓細胞		
hsa-miR-106a-3p	2535	3556	骨形成原細胞	骨肉腫,他のがん	細胞分化
hsa-miR-106a-5p	2536	3557	骨形成原細胞	骨肉腫,他のがん	細胞分化
hsa-miR-106b-3p	2537	3558	胚幹細胞	様々ながん(非小肺癌,胃癌,HCC,神経膠腫など)	癌遺伝子
hsa-miR-106b-5p	2538	3559	胚幹細胞	様々ながん(非小肺癌,胃癌,HCC,神経膠腫など)	癌遺伝子
hsa-miR-107	2539	3560	多くの組織,脳肝細胞/肝臓	乳癌,下垂体腺腫,肥満/糖尿病	

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 3】

hsa-miR-10a-3p	2540	3561	造血細胞	急性骨髄性白血病	癌遺伝子,細胞成長
hsa-miR-10a-5p	2541	3562	造血細胞	急性骨髄性白血病	癌遺伝子,細胞成長
hsa-miR-10b-3p	2542	3563	多数の組織および細胞	様々ながん(乳癌,卵巣癌,神経膠芽腫,膵管腺癌,胃癌など)	癌遺伝子
hsa-miR-10b-5p	2543	3564	多数の組織および細胞	様々ながん(乳癌,卵巣癌,神経膠芽腫,膵管腺癌,胃癌など)	癌遺伝子
hsa-miR-1178-3p	2544	3565		骨肉腫	
hsa-miR-1178-5p	2545	3566		骨肉腫	
hsa-miR-1179	2546	3567		骨肉腫	
hsa-miR-1180	2547	3568	肉腫で発見,発現データなし		
hsa-miR-1181	2548	3569		卵巣がん細胞で下方制御,肝細胞でのHCV感染に関連	
hsa-miR-1182	2549	3570	胎盤		
hsa-miR-1183	2550	3571		直腸癌に関連	
hsa-miR-1184	2551	3572	造血細胞	口腔白斑症,(OLK)で下方制御	
hsa-miR-1185-1-3p	2552	3573	胎盤		
hsa-miR-1185-2-3p	2553	3574	胎盤		
hsa-miR-1185-5p	2554	3575	胎盤		
hsa-miR-1193	2555	3576		黒色腫	
hsa-miR-1197	2556	3577		神経芽細胞腫	
hsa-miR-1200	2557	3578		慢性リンパ性白血病	
hsa-miR-1202	2558	3579		慢性リンパ性白血病,卵巣癌細胞で下方制御	
hsa-miR-1203	2559	3580		染色体8q24領域,がん細胞	
hsa-miR-1204	2560	3581		染色体8q24領域,がん細胞	
hsa-miR-1205	2561	3582		染色体8q24領域,がん細胞	
hsa-miR-1206	2562	3583		染色体8q24領域,がん細胞	

10

20

30

【表 0010-4】

hsa-miR-1207-3p	2563	3584		染色体8q24領域,がん細胞	
hsa-miR-1207-5p	2564	3585		染色体8q24領域,がん細胞	
hsa-miR-1208	2565	3586		染色体8q24領域,がん細胞	
hsa-miR-122-3p	2566	3587	腎臓,肝臓/肝細胞	腎細胞癌(RCC),癌細胞	脂質代謝
hsa-miR-1224-3p	2567	3588		ループス腎炎	
hsa-miR-1224-5p	2568	3589		直腸癌	
hsa-miR-1225-3p	2569	3590		副腎褐色細胞腫;MITFノックダウンメラニン細胞で上表制御	
hsa-miR-1225-5p	2570	3591		前立腺癌	
hsa-miR-122-5p	2571	3592	肝臓/肝細胞	がん細胞	脂質代謝
hsa-miR-1226-3p	2572	3593	ミュートロンスクリーニングで発見		
hsa-miR-1226-5p	2573	3594	ミュートロンスクリーニングで発見		
hsa-miR-1227-3p	2574	3595	軟骨/軟骨細胞		
hsa-miR-1227-5p	2575	3596	軟骨/軟骨細胞		
hsa-miR-1228-3p	2576	3597	肝臓(肝細胞)	肝細胞癌(HCC)	抗アポトーシス
hsa-miR-1228-5p	2577	3598	肝臓(肝細胞)	肝細胞癌(HCC)	抗アポトーシス
hsa-miR-1229-3p	2578	3599	ミュートロンスクリーニングで発見		
hsa-miR-1229-5p	2579	3600	ミュートロンスクリーニングで発見		
hsa-miR-1231	2580	3601		HCC	
hsa-miR-1233-1-5p	2581	3602	血清		
hsa-miR-1233-3p	2582	3603	血清		
hsa-miR-1234-3p	2583	3604	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1234-5p	2584	3605	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1236-3p	2585	3606	リンパ内皮細胞		VEGFR-3を標的
hsa-miR-1236-5p	2586	3607	リンパ内皮細胞		VEGFR-3を標的
hsa-miR-1237-3p	2587	3608	食道の細胞株 KYSE-150R		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 5】

hsa-miR-1237-5p	2588	3609	食道の細胞株 KYSE-150R		
hsa-miR-1238-3p	2589	3610		結腸直腸癌	
hsa-miR-1238-5p	2590	3611		結腸直腸癌	
hsa-miR-1243	2591	3612	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-124-3p	2592	3613	脳,血漿(エキソソーム)	神経膠腫	細胞分化
hsa-miR-1244	2593	3614	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1245a	2594	3615	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1245b-3p	2595	3616	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1245b-5p	2596	3617	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-124-5p	2597	3618	脳,血漿(循環)	心不全で上方制御,神経膠腫	細胞分化
hsa-miR-1246	2598	3619	胚幹細胞,上皮細胞		
hsa-miR-1247-3p	2599	3620	胚様体細胞		
hsa-miR-1247-5p	2600	3621	胚様体細胞		
hsa-miR-1248	2601	3622			SnoRNAの成分
hsa-miR-1249	2602	3623	肝臓(肝細胞)		
hsa-miR-1250	2603	3624	乏突起膠細胞		
hsa-miR-1251	2604	3625	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1252	2605	3626	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1253	2606	3627	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1254	2607	3628	胚幹細胞		
hsa-miR-1255a	2608	3629	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1255b-2-3p	2609	3630	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1255b-5p	2610	3631	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1256	2611	3632	胚幹細胞で発見	前立腺癌	
hsa-miR-1257	2612	3633	胚幹細胞で発見	脂肪肉腫(軟組織肉腫)	
hsa-miR-1258	2613	3634	胚幹細胞で発見	乳癌および肺癌	
hsa-miR-125a-3p	2614	3635	脳,造血細胞	様々ながん(前立腺癌,HCCなど)	細胞増殖および分化
hsa-miR-125a-5p	2615	3636	脳,造血細胞	様々ながん(前立腺癌,HCCなど)	細胞増殖および分化
hsa-miR-125b-1-3p	2616	3637	造血細胞(単球), 脳(ニューロン)	様々ながん(前立腺癌,HCCなど)	癌遺伝子,細胞分化
hsa-miR-125b-2-3p	2617	3638	造血細胞(単球), 脳(ニューロン)	様々ながん(前立腺癌,HCCなど)	癌遺伝子,細胞分化

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 6】

hsa-miR-125b-5p			造血細胞,脳(ニューロン)	ど) 様々ながん(皮膚T細胞性リンパ腫,前立腺癌,HCCなど)	癌遺伝子,細胞分化
	2618	3639			
hsa-miR-1260a	2619	3640	歯周組織		
hsa-miR-1260b	2620	3641	歯周組織		
hsa-miR-1261	2621	3642	胚幹細胞		
hsa-miR-1262	2622	3643	胚様体細胞		
hsa-miR-1263	2623	3644	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-126-3p	2624	3645	内皮細胞,肺	B系統ALL	血管新生
hsa-miR-1264	2625	3646	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1265	2626	3647	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-126-5p			内皮細胞,肺	乳癌,B系統ALL	血管新生
	2627	3648			
hsa-miR-1266	2628	3649	胚幹細胞		
hsa-miR-1267	2629	3650	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1268a	2630	3651	胚幹細胞		
hsa-miR-1268b	2631	3652	胚幹細胞		
hsa-miR-1269a	2632	3653	胚様体細胞		
hsa-miR-1269b	2633	3654	胚様体細胞		
hsa-miR-1270	2634	3655	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1271-3p			脳	肝細胞癌(HCC)	HCCのGPC-3を抑制
	2635	3656			
hsa-miR-1271-5p			脳	肝細胞癌(HCC)	HCCのGPC-3を抑制
	2636	3657			
hsa-miR-1272	2637	3658	胚幹細胞		
hsa-miR-1273a	2638	3659	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1273c	2639	3660		結腸直腸癌	
hsa-miR-1273d	2640	3661	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1273e	2641	3662		固形腫瘍細胞	
hsa-miR-1273f	2642	3663		子宮頸癌	
hsa-miR-1273g-3p	2643	3664		子宮頸癌	
hsa-miR-1273g-5p	2644	3665		子宮頸癌	
hsa-miR-127-3p	2645	3666	肺,胎盤		
hsa-miR-1275	2646	3667	胚幹細胞	胃癌	
hsa-miR-127-5p	2647	3668	肺,胎盤(臍島)		
hsa-miR-1276	2648	3669	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1277-3p	2649	3670	胚様体細胞		
hsa-miR-1277-5p	2650	3671	胚様体細胞		
hsa-miR-1278	2651	3672	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1279	2652	3673	単球		
hsa-miR-128			神経膠芽細胞,脳	B系統ALL	ニューロンのニューロフィ
	2653	3674			

10

20

30

【表 0010-7】

					プロミン1に 標的化
hsa-miR-1281	2654	3675		筋肉湿潤性膀胱 癌	
hsa-miR-1282	2655	3676	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1283	2656	3677	胎盤		
hsa-miR-1284	2657	3678		肺癌	
hsa-miR-1285-3p	2658	3679		様々ながん細胞	P53発現を阻 害
hsa-miR-1285-5p	2659	3680		様々ながん細胞	P53発現を阻 害
hsa-miR-1286	2660	3681	平滑筋	食道癌	
hsa-miR-1287	2661	3682	胚様体細胞	乳癌	
hsa-miR-1288	2662	3683	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1289	2663	3684	複数の細胞型		
hsa-miR-1290	2664	3685	胚様体細胞	胃癌	
hsa-miR-1291	2665	3686	肝細胞		SnoRNAの成 分
hsa-miR-129-1-3p	2666	3687	複数の細胞型	HCCがん細胞	
hsa-miR-1292-3p	2667	3688			
hsa-miR-129-2-3p	2668	3689	複数の細胞型	様々ながん細胞	
hsa-miR-1292-5p	2669	3690			
hsa-miR-1293	2670	3691	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1294	2671	3692	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1295a	2672	3693		腫瘍細胞(濾胞 性リンパ腫)	
hsa-miR-1295b- 3p	2673	3694		腫瘍細胞(濾胞 性リンパ腫)	
hsa-miR-1295b- 5p	2674	3695		腫瘍細胞(濾胞 性リンパ腫)	
hsa-miR-129-5p	2675	3696	肝臓(肝細胞)	HCC,甲状腺癌	癌細胞での細 胞死
hsa-miR-1296	2676	3697		乳癌	
hsa-miR-1297	2677	3698	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1298	2678	3699			
hsa-miR-1299	2679	3700	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1301	2680	3701		乳癌	
hsa-miR-1302	2681	3702			
hsa-miR-1303	2682	3703	肝細胞	結腸直腸癌,肝 臓癌	
hsa-miR-1304-3p	2683	3704			菌の発育
hsa-miR-1304-5p	2684	3705			菌の発育
hsa-miR-1305	2685	3706	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1306-3p	2686	3707	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1306-5p	2687	3708	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-1307-3p	2688	3709	胚幹細胞で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 8】

hsa-miR-1307-5p	2689	3710	胚幹細胞で発見		
hsa-miR-130a-3p			肺,単球,血管内皮細胞	様々ながん(基底細胞癌,HCC,卵巣癌など),薬剤耐性	血管新生促進
	2690	3711			
hsa-miR-130a-5p			肺,単球,血管内皮細胞	様々ながん(基底細胞癌,HCC,卵巣癌など),薬剤耐性	血管新生促進
	2691	3712			
hsa-miR-130b-3p			肺,上皮細胞(角化細胞)	様々ながん(胃癌,腎臓細胞癌)	細胞増殖/老化
	2692	3713			
hsa-miR-130b-5p			肺,上皮細胞(角化細胞)	様々ながん(胃癌,腎臓細胞癌)	細胞増殖/老化
	2693	3714			
hsa-miR-1321	2694	3715		神経芽細胞腫	
hsa-miR-1322	2695	3716		神経芽細胞腫	
hsa-miR-1323	2696	3717	胎盤	神経芽細胞腫	
hsa-miR-132-3p			脳(ニューロン),免疫細胞		
	2697	3718			
hsa-miR-1324	2698	3719		神経芽細胞腫	
hsa-miR-132-5p			脳(ニューロン),免疫細胞		
	2699	3720			
hsa-miR-133a			筋肉,心臓,上皮細胞(肺)	心不全,食道癌	筋形成
	2700	3721			
hsa-miR-133b			筋肉,心臓,上皮細胞(肺)	心不全,食道癌	筋形成
	2701	3722			
hsa-miR-134			肺(上皮)	非小細胞肺癌,肺塞栓症	
	2702	3723			
hsa-miR-1343	2703	3724		乳癌細胞	
hsa-miR-135a-3p			脳,他の組織	様々ながん細胞(肺癌,乳癌,結腸直腸癌,HCCなど)	腫瘍抑制因子
	2704	3725			
hsa-miR-135a-5p			脳,他の組織	様々ながん細胞(肺癌,乳癌,結腸直腸癌,HCCなど)	腫瘍抑制因子
	2705	3726			
hsa-miR-135b-3p			脳,胎盤,他の組織	様々ながん(胃癌,乳癌,神経芽細胞腫,膵癌など)	
	2706	3727			
hsa-miR-135b-5p			脳,胎盤,他の組織	様々ながん(胃癌,乳癌,神経芽細胞腫,膵癌など)	
	2707	3728			
hsa-miR-136-3p	2708	3729	幹細胞,胎盤	神経膠腫	腫瘍抑制因子
hsa-miR-136-5p	2709	3730	幹細胞,胎盤	神経膠腫	腫瘍抑制因子

10

20

30

【表 0010-9】

hsa-miR-137	2710	3731	脳	様々ながん(神経膠芽腫,乳癌,胃癌など),アルツハイマー病	がん細胞増殖および遊走阻害
hsa-miR-138-1-3p	2711	3732	幹細胞,上皮細胞(角化細胞)	様々ながん細胞,HCCで下方制御	細胞増殖/老化
hsa-miR-138-2-3p	2712	3733	幹細胞	様々ながん細胞,HCCで下方制御	
hsa-miR-138-5p	2713	3734	幹細胞	様々ながん細胞,HCCで下方制御	
hsa-miR-139-3p	2714	3735	血球,脳	様々ながん細胞(結腸直腸癌,胃癌,卵巣癌)	がん転移を抑制
hsa-miR-139-5p	2715	3736	血球,脳	様々ながん細胞(結腸直腸癌,胃癌,卵巣癌)	がん転移を抑制
hsa-miR-140-3p	2716	3737	気道平滑筋	ウイルス感染,がん	
hsa-miR-140-5p	2717	3738	軟骨(軟骨細胞)	がん	
hsa-miR-141-3p	2718	3739	多くの組織/細胞	様々ながん細胞(HCC,前立腺癌,腎臓癌など)	細胞分化
hsa-miR-141-5p	2719	3740	多くの組織/細胞	様々ながん細胞(HCC,前立腺癌,腎臓癌など)	細胞分化
hsa-miR-142-3p	2720	3741	骨髄系細胞,血球新生,APC細胞		免疫応答
hsa-miR-142-5p	2721	3742	骨髄系細胞,血球新生,APC細胞		免疫応答
hsa-miR-143-3p	2722	3743	血管平滑筋	プレB細胞急性リンパ性白血病,ウイルス感染	
hsa-miR-143-5p	2723	3744	血管平滑筋,T細胞	ウイルス感染	
hsa-miR-144-3p	2724	3745	赤血球	様々ながん(肺癌,結腸直腸癌など)	細胞分化
hsa-miR-144-5p	2725	3746	赤血球	様々ながん(肺癌,結腸直腸癌など)	細胞分化
hsa-miR-145-3p	2726	3747	腎臓,軟骨,血管平滑筋	T細胞ループス	腫瘍抑制因子

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 1 0】

hsa-miR-145-5p	2727	3748	腎臓,軟骨,血管平滑筋	T細胞ループス	腫瘍抑制因子
hsa-miR-1468	2728	3749		肺癌	
hsa-miR-1469	2729	3750		腫瘍細胞(濾胞性リンパ腫),直腸癌	
hsa-miR-146a-3p	2730	3751	免疫細胞,血球新生	様々ながん,エンドトキシン耐性	
hsa-miR-146a-5p	2731	3752	免疫細胞,血球新生	様々ながん,エンドトキシン耐性	
hsa-miR-146b-3p	2732	3753	免疫細胞	様々ながん	
hsa-miR-146b-5p	2733	3754	胚幹細胞	様々ながん(神経膠腫)	腫瘍湿潤,移動
hsa-miR-1470	2734	3755			
hsa-miR-1471	2735	3756		腫瘍細胞(濾胞性リンパ腫),直腸癌	
hsa-miR-147a	2736	3757	マクロファージ	炎症反応	
hsa-miR-147b	2737	3758	マクロファージ	炎症反応	
hsa-miR-148a-3p	2738	3759	造血細胞	CLL,T系統	
hsa-miR-148a-5p	2739	3760	造血細胞	CLL,T系統	
hsa-miR-148b-3p	2740	3761	ニューロン		
hsa-miR-148b-5p	2741	3762	ニューロン		
hsa-miR-149-3p	2742	3763	心臓,脳	様々ながん(神経膠腫,結腸直腸癌,胃癌など)	
hsa-miR-149-5p	2743	3764	心臓,脳	様々ながん(神経膠腫,結腸直腸癌,胃癌など)	
hsa-miR-150-3p	2744	3765	造血細胞(リンパ系)	循環血漿(急性骨髄性白血病)	
hsa-miR-150-5p	2745	3766	造血細胞(リンパ系)	循環血漿(急性骨髄性白血病)	
hsa-miR-151a-3p	2746	3767	ニューロン,胎児肝		
hsa-miR-151a-5p	2747	3768	ニューロン,胎児肝		
hsa-miR-151b	2748	3769	免疫細胞(B細胞)		
hsa-miR-152	2749	3770	肝臓		
hsa-miR-153	2750	3771	脳		
hsa-miR-1537	2751	3772			
hsa-miR-1538	2752	3773	血液	がん細胞	

10

20

30

【表 0010-11】

hsa-miR-1539	2753	3774	食道の細胞株 KYSE-150R		
hsa-miR-154-3p	2754	3775	胚幹細胞		
hsa-miR-154-5p	2755	3776	胚幹細胞		
hsa-miR-155-3p	2756	3777	T/B細胞,単球,胸 様々ながん (CLL,B細胞リ ンパ腫,乳癌,肺 癌,卵巣癌,子宮 頸癌,結腸直腸 癌,前立腺癌)		
hsa-miR-155-5p	2757	3778	T/B細胞,単球,胸 様々ながん (CLL,B細胞リ ンパ腫,乳癌,肺 癌,卵巣癌,子宮 頸癌,結腸直腸 癌,前立腺癌)		
hsa-miR-1587	2758	3779	B細胞で特定		
hsa-miR-15a-3p	2759	3780	血液,リンパ球,造 血組織 (脾臓)		細胞周期,増殖
hsa-miR-15a-5p	2760	3781	血液,リンパ球,造 血組織 (脾臓)		細胞周期,増殖
hsa-miR-15b-3p	2761	3782	血液,リンパ球,造 血組織 (脾臓)		細胞周期,増殖
hsa-miR-15b-5p	2762	3783	血液,リンパ球,造 血組織 (脾臓)		細胞周期,増殖
hsa-miR-16-1-3p	2763	3784	胚幹細胞,血液,造 血組織 (脾臓)		
hsa-miR-16-2-3p	2764	3785	血液,リンパ球,造 血組織 (脾臓)		
hsa-miR-16-5p	2765	3786	多くの組織,血液		
hsa-miR-17-3p	2766	3787	胚幹細胞,内皮細 胞,		腫瘍血管新生
hsa-miR-17-5p	2767	3788	内皮細胞,腎臓, 胸;		腫瘍血管新生
hsa-miR-181a-2- 3p	2768	3789	神経膠芽細胞,幹 細胞		
hsa-miR-181a-3p	2769	3790	神経膠芽細胞,骨 髄系細胞,胚幹細 胞		
hsa-miR-181a-5p	2770	3791	神経膠芽細胞,骨 髄系細胞,胚幹細 胞		
hsa-miR-181b-3p	2771	3792	神経膠芽細胞,胚 幹細胞,上皮(角化 細胞)		細胞増殖/老化
hsa-miR-181b-5p	2772	3793	神経膠芽細胞,胚		細胞増殖/老化

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 1 2】

			幹細胞,上皮(角化細胞)		
hsa-miR-181c-3p	2773	3794	脳,幹細胞/前駆細胞	様々ながん細胞 (神経膠芽腫,基底細胞癌,前立腺癌)	細胞分化
hsa-miR-181c-5p	2774	3795	脳,幹細胞/前駆細胞	様々ながん細胞 (神経膠芽腫,基底細胞癌,前立腺癌)	細胞分化
hsa-miR-181d	2775	3796	膠細胞		
hsa-miR-182-3p	2776	3797	免疫細胞	自己免疫	免疫応答
hsa-miR-1825	2777	3798	MiRディープ配列スクリーニングで発見		
hsa-miR-182-5p	2778	3799	肺,免疫細胞	自己免疫	免疫応答
hsa-miR-1827	2779	3800		小細胞肺癌	
hsa-miR-183-3p	2780	3801	脳		
hsa-miR-183-5p	2781	3802	脳		
hsa-miR-184	2782	3803	血液,舌,膵臓(膵島)		
hsa-miR-185-3p	2783	3804			
hsa-miR-185-5p	2784	3805			
hsa-miR-186-3p	2785	3806	骨芽細胞,心臓	様々ながん細胞	
hsa-miR-186-5p	2786	3807	骨芽細胞,心臓	様々ながん細胞	
hsa-miR-187-3p	2787	3808		甲状腺腫瘍	
hsa-miR-187-5p	2788	3809		甲状腺腫瘍	
hsa-miR-188-3p	2789	3810	気道平滑筋,中枢神経系		
hsa-miR-188-5p	2790	3811	気道平滑筋,中枢神経系		
hsa-miR-18a-3p	2791	3812	内皮細胞,肺		
hsa-miR-18a-5p	2792	3813	内皮細胞,肺		
hsa-miR-18b-3p	2793	3814	肺		
hsa-miR-18b-5p	2794	3815	肺		
hsa-miR-1908	2795	3816		乳癌	
hsa-miR-1909-3p	2796	3817		直腸癌	
hsa-miR-1909-5p	2797	3818		直腸癌	
hsa-miR-190a	2798	3819	脳		
hsa-miR-190b	2799	3820	脳		
hsa-miR-1910	2800	3821	胚幹細胞		
hsa-miR-1911-3p	2801	3822	胚幹細胞,神経前駆体		
hsa-miR-1911-5p	2802	3823	胚幹細胞,神経前駆体		
hsa-miR-1912	2803	3824	胚幹細胞,神経前		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 1 3】

			胚体		
hsa-miR-1913	2804	3825	胚幹細胞		
hsa-miR-191-3p	2805	3826		慢性リンパ性白血 病,B系統 ALL	
hsa-miR-1914-3p	2806	3827	胚幹細胞		
hsa-miR-1914-5p	2807	3828	胚幹細胞		
hsa-miR-1915-3p	2808	3829	胚幹細胞		
hsa-miR-1915-5p	2809	3830	胚幹細胞		
hsa-miR-191-5p	2810	3831		慢性リンパ性白血 病,B系統 ALL	
hsa-miR-192-3p	2811	3832	腎臓		
hsa-miR-192-5p	2812	3833	腎臓		
hsa-miR-193a-3p	2813	3834	多くの組織／細胞	様々ながん細胞 (肺,骨芽細胞 腫,ALL,濾胞性 リンパ腫など)	腫瘍抑制因子, 増殖
hsa-miR-193a-5p	2814	3835	多くの組織／細胞	様々ながん細胞 (肺,骨芽細胞 腫,ALL,濾胞性 リンパ腫など)	腫瘍抑制因子, 増殖
hsa-miR-193b-3p	2815	3836	多くの組織／細胞,精液	様々ながん細胞 (前立腺癌,乳癌, 黒色腫,骨髄腫, 非小細胞肺癌など) 濾胞性リン パ腫)	腫瘍抑制因子
hsa-miR-193b-5p	2816	3837	多くの組織／細胞,精液	様々ながん細胞 (前立腺癌,乳癌, 黒色腫,骨髄腫, 非小細胞肺癌など) 濾胞性リン パ腫)	腫瘍抑制因子
hsa-miR-194-3p	2817	3838	腎臓,肝臓	様々ながん	
hsa-miR-194-5p	2818	3839	腎臓,肝臓	様々ながん	
hsa-miR-195-3p	2819	3840	胸,膵臓(膵島)		
hsa-miR-195-5p	2820	3841	胸,膵臓(膵島)		
hsa-miR-196a-3p	2821	3842	膵臓細胞,子宮内 膜組織, 間葉幹細胞	様々ながん細胞 (膵癌,骨肉腫,子 宮内膜癌,AML など)	癌化,腫瘍抑制 因子
hsa-miR-196a-5p	2822	3843	膵臓細胞,子宮内 膜組織, 間葉幹細胞	様々ながん細胞 (膵癌,骨肉腫,子 宮内膜癌,AML など)	癌化,腫瘍抑制 因子

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 1 4】

hsa-miR-196b-3p	2823	3844	子宮内膜組織	神経膠芽腫	アポトーシス
hsa-miR-196b-5p	2824	3845	子宮内膜組織	神経膠芽腫	アポトーシス
hsa-miR-1972				急性リンパ球性 白血病	
hsa-miR-1973	2825	3846		急性リンパ球性 白血病	
	2826	3847		急性リンパ球性 白血病	
hsa-miR-197-3p			血液(骨髄),他の 組織/細胞	様々ながん(甲 状腺腫瘍,白血 病など)	
	2827	3848		様々ながん(甲 状腺腫瘍,白血 病など)	
hsa-miR-197-5p			血液(骨髄),他の 組織/細胞	様々ながん(甲 状腺腫瘍,白血 病など)	
	2828	3849		様々ながん(甲 状腺腫瘍,白血 病など)	
hsa-miR-1976				急性リンパ球性 白血病	
	2829	3850		急性リンパ球性 白血病	
hsa-miR-198			中枢神経系 (CNS)		
	2830	3851			
hsa-miR-199a-3p			肝臓,胚様体細胞, 心筋細胞		
	2831	3852			
hsa-miR-199a-5p	2832	3853	肝臓,心筋細胞		
hsa-miR-199b-3p	2833	3854	肝臓,骨芽細胞	様々ながん	骨形成
hsa-miR-199b-5p	2834	3855	肝臓,骨芽細胞	様々ながん	骨形成
hsa-miR-19a-3p	2835	3856	内皮細胞		腫瘍血管新生
hsa-miR-19a-5p	2836	3857	内皮細胞		腫瘍血管新生
hsa-miR-19b-1-5p	2837	3858	内皮細胞		腫瘍血管新生
hsa-miR-19b-2-5p	2838	3859	内皮細胞		腫瘍血管新生
hsa-miR-19b-3p	2839	3860	内皮細胞		腫瘍血管新生
hsa-miR-200a-3p			上皮細胞,多くの 他の組織	様々ながん(乳 癌,子宮頸癌,膀 胱癌など)	腫瘍進行およ び転移
	2840	3861		様々ながん(乳 癌,子宮頸癌,膀 胱癌など)	腫瘍進行およ び転移
hsa-miR-200a-5p			上皮細胞,多くの 他の組織	様々ながん(乳 癌,子宮頸癌,膀 胱癌など)	腫瘍進行およ び転移
	2841	3862		様々ながん(乳 癌,子宮頸癌,膀 胱癌など)	腫瘍進行およ び転移
hsa-miR-200b-3p			上皮細胞,多くの 他の組織		腫瘍進行およ び転移
	2842	3863			腫瘍進行およ び転移
hsa-miR-200b-5p			上皮細胞,多くの 他の組織		腫瘍進行およ び転移
	2843	3864			腫瘍進行およ び転移
hsa-miR-200c-3p			上皮細胞,多くの 他の組織,胚幹細 胞		腫瘍進行およ び転移
	2844	3865			腫瘍進行およ び転移
hsa-miR-200c-5p			上皮細胞,多くの 他の組織,胚幹細 胞		腫瘍進行およ び転移
	2845	3866			腫瘍進行およ び転移
hsa-miR-202-3p			血液	リンパ腫形成, 他のがん	
	2846	3867		リンパ腫形成, 他のがん	
hsa-miR-202-5p			血液	リンパ腫形成, 他のがん	
	2847	3868		リンパ腫形成, 他のがん	

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 1 5】

hsa-miR-203a	2848	3869	皮膚(上皮)	乾癬,自己免疫	
hsa-miR-203b-3p	2849	3870	皮膚特異性(上皮)	乾癬,自己免疫	
hsa-miR-203b-5p	2850	3871	皮膚特異性(上皮)	乾癬,自己免疫	
hsa-miR-204-3p	2851	3872	脂肪,他の組織/細胞,腎臓	様々ながん	腫瘍転移
hsa-miR-204-5p	2852	3873	脂肪,他の組織/細胞,腎臓	様々ながん	腫瘍転移
hsa-miR-2052	2853	3874			
hsa-miR-2053	2854	3875			
hsa-miR-205-3p	2855	3876	血液(血漿)	様々ながん細胞 (乳癌,神経膠腫, 黒色腫,子宮内 膜癌など)	
hsa-miR-2054	2856	3877			
hsa-miR-205-5p	2857	3878	血液(血漿)	様々ながん細胞 (乳癌,神経膠腫, 黒色腫,子宮内 膜癌など)	
hsa-miR-206	2858	3879	筋肉(心筋および 骨格筋)		筋形成
hsa-miR-208a	2859	3880	心臓(心筋細胞)筋 肉	心臓欠陥	
hsa-miR-208b	2860	3881	心臓(心筋細胞)筋 肉	心臓欠陥	
hsa-miR-20a-3p	2861	3882	内皮細胞,腎臓,骨 形成原細胞		
hsa-miR-20a-5p	2862	3883	内皮細胞,腎臓,骨 形成原細胞		
hsa-miR-20b-3p	2863	3884	骨形成原細胞		
hsa-miR-20b-5p	2864	3885	骨形成原細胞		
hsa-miR-210	2865	3886	腎臓,心臓,血管内 皮細胞	RCC,B細胞リ ンパ球	血管新生
hsa-miR-2110	2866	3887		直腸癌	
hsa-miR-2113	2867	3888	胚幹細胞		
hsa-miR-211-3p	2868	3889	メラニン細胞	黒色腫および他 のがん	
hsa-miR-2114-3p	2869	3890	卵巣,女性の生殖 器系		
hsa-miR-2114-5p	2870	3891	卵巣,女性の生殖 器系		
hsa-miR-2115-3p	2871	3892	女性の生殖器系	卵巣癌	
hsa-miR-2115-5p	2872	3893	女性の生殖器系	卵巣癌	
hsa-miR-211-5p	2873	3894	メラニン細胞	黒色腫および他 のがん	
hsa-miR-2116-3p	2874	3895		肝臓癌(肝細胞) および卵巣癌	

10

20

30

【表 0010-16】

hsa-miR-2116-5p	2875	3896		肝臓癌(肝細胞) および卵巣癌	
hsa-miR-2117	2876	3897		卵巣癌	
hsa-miR-212-3p	2877	3898	脳(ニューロン), 脾臓	リンパ腫	
hsa-miR-212-5p	2878	3899	脳(ニューロン), 脾臓	リンパ腫	
hsa-miR-21-3p	2879	3900	神経膠芽細胞,血 液(骨髄系細胞), 肝臓,血管内皮細 胞	自己免疫,心臓 疾患,がん	
hsa-miR-214-3p	2880	3901	免疫細胞,脾臓	様々ながん(黒 色腫,脾臓,卵巣 癌)	免疫応答
hsa-miR-214-5p	2881	3902	免疫細胞,脾臓	様々ながん(黒 色腫,脾臓,卵巣 癌)	免疫応答
hsa-miR-215	2882	3903	多くの組織/細 胞	様々ながん(腎 臓癌,大腸癌,骨 肉腫)	細胞周期停止 p53誘導性
hsa-miR-21-5p	2883	3904	血液(骨髄系細 胞),肝臓,内皮細 胞	自己免疫,心臓 疾患,がん	
hsa-miR-216a-3p	2884	3905	腎臓,脾臓		
hsa-miR-216a-5p	2885	3906	腎臓,脾臓		
hsa-miR-216b	2886	3907		がん	老化
hsa-miR-217	2887	3908	内皮細胞	様々ながん細胞 (脾臓,腎臓,乳 癌)	
hsa-miR-218-1-3p	2888	3909	内皮細胞	様々ながん細胞 (胃腫瘍,膀胱癌, 子宮頸癌など)	
hsa-miR-218-2-3p	2889	3910		様々ながん細胞 (胃腫瘍,膀胱癌, 子宮頸癌など)	
hsa-miR-218-5p	2890	3911		様々ながん細胞 (胃腫瘍,膀胱癌, 子宮頸癌など)	
hsa-miR-219-1-3p	2891	3912	脳,乏突起膠細胞		
hsa-miR-219-2-3p	2892	3913	脳,乏突起膠細胞		
hsa-miR-219-5p	2893	3914	脳,乏突起膠細胞		
hsa-miR-221-3p	2894	3915	内皮細胞,免疫細 胞	白血病および他 のがん	血管新生/脈管 形成
hsa-miR-221-5p	2895	3916	内皮細胞,免疫細 胞	白血病および他 のがん	血管新生/脈管 形成
hsa-miR-222-3p	2896	3917	内皮細胞	様々ながん	血管新生

10

20

30

【表 0010-17】

hsa-miR-222-5p	2897	3918	内皮細胞	様々ながん	血管新生
hsa-miR-223-3p	2898	3919	骨髄系細胞	白血病	
hsa-miR-223-5p	2899	3920	骨髄系細胞	白血病	
hsa-miR-22-3p			多くの組織／細胞	様々ながん	腫瘍形成
	2900	3921			
hsa-miR-224-3p	2901	3922	血液(血漿),卵巣	がんおよび炎症	
hsa-miR-224-5p	2902	3923	血液(血漿),卵巣	がんおよび炎症	
hsa-miR-22-5p			多くの組織／細胞	様々ながん	腫瘍形成
	2903	3924			
hsa-miR-2276	2904	3925		乳癌	
hsa-miR-2277-3p	2905	3926	女性の生殖器官系		
hsa-miR-2277-5p	2906	3927	女性の生殖器官系		
hsa-miR-2278	2907	3928		乳癌	
hsa-miR-2355-3p	2908	3929	胚幹細胞		
hsa-miR-2355-5p	2909	3930	胚幹細胞		
hsa-miR-2392	2910	3931	B細胞で特定		
hsa-miR-23a-3p			脳(星状細胞),内皮細胞,血液(赤血球)	がん	
	2911	3932			
hsa-miR-23a-5p			脳(星状細胞),内皮細胞,血液(赤血球)	がん	
	2912	3933			
hsa-miR-23b-3p			血液,骨髄系細胞	がん(腎臓癌,神経膠芽腫,前立腺癌など)および自己免疫	
	2913	3934			
hsa-miR-23b-5p			血液,骨髄系細胞	がん(神経膠芽腫,前立腺癌など)および自己免疫	
	2914	3935			
hsa-miR-23c	2915	3936		子宮頸癌	
hsa-miR-24-1-5p	2916	3937	肺,骨髄系細胞		
hsa-miR-24-2-5p	2917	3938	肺,骨髄系細胞		
hsa-miR-24-3p	2918	3939	肺,骨髄系細胞		
hsa-miR-2467-3p	2919	3940		乳癌	
hsa-miR-2467-5p	2920	3941		乳癌	
hsa-miR-25-3p			胚幹細胞,気道平滑筋		
	2921	3942			
hsa-miR-25-5p			胚幹細胞,気道平滑筋		
	2922	3943			
hsa-miR-2681-3p	2923	3944		乳癌	
hsa-miR-2681-5p	2924	3945		乳癌	
hsa-miR-2682-3p	2925	3946			
hsa-miR-2682-5p	2926	3947			
hsa-miR-26a-1-3p			胚幹細胞,血液,他の組織	CLLおよび他のがん	細胞周期および分化
	2927	3948			

10

20

30

【表 0010-18】

hsa-miR-26a-2-3p	2928	3949	血液,他の組織	CLLおよび他のがん	細胞周期および分化
hsa-miR-26a-5p	2929	3950	血液,他の組織	CLLおよび他のがん	細胞周期および分化
hsa-miR-26b-3p	2930	3951	造血細胞		
hsa-miR-26b-5p	2931	3952	造血細胞		
hsa-miR-27a-3p	2932	3953	骨髄系細胞	様々ながん細胞	
hsa-miR-27a-5p	2933	3954	骨髄系細胞	様々ながん細胞	
hsa-miR-27b-3p	2934	3955	骨髄系細胞,血管内皮細胞	様々ながん細胞	血管新生促進
hsa-miR-27b-5p	2935	3956	骨髄系細胞,血管内皮細胞	様々ながん細胞	血管新生促進
hsa-miR-28-3p	2936	3957	血液(免疫細胞)	B/T細胞リンパ腫	
hsa-miR-28-5p	2937	3958	血液(免疫細胞)	B/T細胞リンパ腫	
hsa-miR-2861	2938	3959	骨芽細胞	基底細胞癌	
hsa-miR-2909	2939	3960	Tリンパ球		
hsa-miR-296-3p	2940	3961	腎臓,心臓,肺,内皮細胞		血管新生
hsa-miR-2964a-3p	2941	3962			
hsa-miR-2964a-5p	2942	3963			
hsa-miR-296-5p	2943	3964	肺,肝臓,内皮細胞		血管新生
hsa-miR-297	2944	3965	卵母細胞および前立腺		
hsa-miR-298	2945	3966		乳癌	
hsa-miR-299-3p	2946	3967		骨髄性白血病,肝細胞腫,乳癌	
hsa-miR-299-5p	2947	3968		骨髄性白血病,肝細胞腫,乳癌	
hsa-miR-29a-3p	2948	3969	免疫系	CLL,他のがん,神経変性疾患	腫瘍抑制,免疫調節
hsa-miR-29a-5p	2949	3970	免疫系	CLL,他のがん,神経変性疾患	腫瘍抑制,免疫調節
hsa-miR-29b-1-5p	2950	3971	免疫系	CLL,他のがん,神経変性疾患	腫瘍抑制,免疫調節
hsa-miR-29b-2-5p	2951	3972	免疫系	CLL,他のがん	腫瘍抑制,免疫調節
hsa-miR-29b-3p	2952	3973	免疫系	CLL,他のがん	腫瘍抑制,免疫調節
hsa-miR-29c-3p	2953	3974	免疫系	CLL,他のがん	腫瘍抑制,免疫調節
hsa-miR-29c-5p	2954	3975	免疫系	CLL,他のがん	腫瘍抑制,免疫調節

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 1 9】

hsa-miR-300	2955	3976	骨芽細胞	膀胱癌	
hsa-miR-301a-3p	2956	3977	胚幹細胞		
hsa-miR-301a-5p	2957	3978	胚幹細胞		
hsa-miR-301b	2958	3979		食道腺癌,大腸癌	
hsa-miR-302a-3p	2959	3980	胚幹細胞,脂質代謝		脂質代謝
hsa-miR-302a-5p	2960	3981	胚幹細胞,脂質代謝		脂質代謝
hsa-miR-302b-3p	2961	3982	胚幹細胞		
hsa-miR-302b-5p	2962	3983	胚幹細胞		
hsa-miR-302c-3p	2963	3984	胚幹細胞		
hsa-miR-302c-5p	2964	3985	胚幹細胞		
hsa-miR-302d-3p	2965	3986	胚幹細胞		
hsa-miR-302d-5p	2966	3987	胚幹細胞		
hsa-miR-302e	2967	3988	胚様体細胞		
hsa-miR-302f	2968	3989		胃癌	
hsa-miR-3064-3p	2969	3990			
hsa-miR-3064-5p	2970	3991			
hsa-miR-3065-3p	2971	3992	乏突起膠細胞	抗ウイルス応答	
hsa-miR-3065-5p	2972	3993	乏突起膠細胞	固形腫瘍	
hsa-miR-3074-3p	2973	3994		様々ながん(黒色腫,乳癌)	
hsa-miR-3074-5p	2974	3995		様々ながん(黒色腫,乳癌)	
hsa-miR-30a-3p	2975	3996	腎臓,脾臓細胞	様々ながん	オートファジー
hsa-miR-30a-5p	2976	3997	CNS(前頭前皮質),他の組織	神経膠腫,大腸癌	オートファジー
hsa-miR-30b-3p	2977	3998	腎臓,脂肪,CNS(前頭前皮質)		
hsa-miR-30b-5p	2978	3999	腎臓,脂肪,CNS(前頭前皮質)		
hsa-miR-30c-1-3p	2979	4000	腎臓,脂肪,CNS(前頭前皮質)		
hsa-miR-30c-2-3p	2980	4001	腎臓,脂肪,CNS(前頭前皮質)		
hsa-miR-30c-5p	2981	4002	腎臓,脂肪,CNS(前頭前皮質)		
hsa-miR-30d-3p	2982	4003	CNS(前頭前皮質)		
hsa-miR-30d-5p	2983	4004	CNS(前頭前皮質)		

10

20

30

【表 0010-20】

			質,胚様体細胞		
hsa-miR-30e-3p	2984	4005	骨髓系細胞,膠細胞		
hsa-miR-30e-5p	2985	4006	骨髓系細胞,膠細胞		
hsa-miR-3115	2986	4007		様々ながん(黒色腫,乳腺腫瘍)	
hsa-miR-3116	2987	4008	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3117-3p	2988	4009	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3117-5p	2989	4010	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3118	2990	4011	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3119	2991	4012	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3120-3p	2992	4013	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3120-5p	2993	4014	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3121-3p	2994	4015	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3121-5p	2995	4016	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3122	2996	4017	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3123	2997	4018	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3124-3p	2998	4019	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3124-5p	2999	4020	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3125	3000	4021	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3126-3p	3001	4022	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3126-5p	3002	4023	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3127-3p	3003	4024	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3127-5p	3004	4025	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3128	3005	4026	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3129-3p	3006	4027	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 2 1】

			ームで発見,卵巣		
hsa-miR-3129-5p	3007	4028	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3130-3p	3008	4029	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3130-5p	3009	4030	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3131	3010	4031	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3132	3011	4032	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3133	3012	4033	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3134	3013	4034	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3135a	3014	4035	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3135b	3015	4036	B細胞で発見		
hsa-miR-3136-3p	3016	4037	黒色腫miRNAオームで発見	リンパ性白血病および乳腺腫瘍	
hsa-miR-3136-5p	3017	4038	黒色腫miRNAオームで発見	リンパ性白血病および乳腺腫瘍	
hsa-miR-3137	3018	4039	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3138	3019	4040	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣		
hsa-miR-3139	3020	4041	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-31-3p	3021	4042			
hsa-miR-3140-3p	3022	4043	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	リンパ性白血病および乳腺腫瘍	
hsa-miR-3140-5p	3023	4044	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	リンパ性白血病および乳腺腫瘍	
hsa-miR-3141	3024	4045	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3142	3025	4046	黒色腫miRNAオームで発見;免疫細胞		
hsa-miR-3143	3026	4047	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3144-3p	3027	4048	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣		
hsa-miR-3144-5p	3028	4049	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣		
hsa-miR-3145-3p	3029	4050	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	

10

20

30

【表 0010-22】

hsa-miR-3145-5p	3030	4051	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3146	3031	4052	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3147	3032	4053	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3148	3033	4054	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3149	3034	4055	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣		
hsa-miR-3150a-3p	3035	4056	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3150a-5p	3036	4057	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3150b-3p	3037	4058	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍およびリンパ性白血病	
hsa-miR-3150b-5p	3038	4059	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍およびリンパ性白血病	
hsa-miR-3151	3039	4060	黒色腫miRNAオームで発見	リンパ性白血病	
hsa-miR-3152-3p	3040	4061	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3152-5p	3041	4062	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3153	3042	4063	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3154	3043	4064	黒色腫miRNAオームで発見	リンパ性白血病	
hsa-miR-3155a	3044	4065	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3155b	3045	4066	B細胞で発見		
hsa-miR-3156-3p	3046	4067	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3156-5p	3047	4068	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3157-3p	3048	4069	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3157-5p	3049	4070	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3158-3p	3050	4071	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3158-5p	3051	4072	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3159	3052	4073	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-31-5p	3053	4074		様々ながん細胞	

10

20

30

【表 0010-23】

				(乳癌,肺,前立腺癌)	
hsa-miR-3160-3p	3054	4075	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3160-5p	3055	4076	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3161	3056	4077	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3162-3p	3057	4078	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3162-5p	3058	4079	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3163	3059	4080	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3164	3060	4081	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3165	3061	4082	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3166	3062	4083	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3167	3063	4084	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣		
hsa-miR-3168	3064	4085	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3169	3065	4086	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3170	3066	4087	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3171	3067	4088	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣		
hsa-miR-3173-3p	3068	4089	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3173-5p	3069	4090	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3174	3070	4091	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3175	3071	4092	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3176	3072	4093	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3177-3p	3073	4094	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍およびリンパ性白血病	
hsa-miR-3177-5p	3074	4095	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍およびリンパ性白血病	
hsa-miR-3178	3075	4096	黒色腫miRNAオームで発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 2 4】

hsa-miR-3179	3076	4097	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3180	3077	4098	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3180-3p	3078	4099	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3180-5p	3079	4100	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3181	3080	4101	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3182	3081	4102	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3183	3082	4103	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3184-3p	3083	4104	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3184-5p	3084	4105	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3185	3085	4106	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3186-3p	3086	4107	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣		
hsa-miR-3186-5p	3087	4108	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣		
hsa-miR-3187-3p	3088	4109	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3187-5p	3089	4110	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3188	3090	4111	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3189-3p	3091	4112	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3189-5p	3092	4113	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3190-3p	3093	4114	黒色腫miRNAオームで発見	リンパ性白血病	
hsa-miR-3190-5p	3094	4115	黒色腫miRNAオームで発見	リンパ性白血病	
hsa-miR-3191-3p	3095	4116	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3191-5p	3096	4117	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3192	3097	4118	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3193	3098	4119	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3194-3p	3099	4120	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	

10

20

30

【表 0010-25】

hsa-miR-3194-5p	3100	4121	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3195	3101	4122	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3196	3102	4123		基底細胞癌	
hsa-miR-3197	3103	4124	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3198	3104	4125	黒色腫miRNAオームで発見	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3199	3105	4126	黒色腫miRNAオームで発見		
hsa-miR-3200-3p	3106	4127	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3200-5p	3107	4128	黒色腫miRNAオームで発見,卵巣	乳腺腫瘍	
hsa-miR-3201	3108	4129	黒色腫miRNAオームで発見,		
hsa-miR-3202	3109	4130	黒色腫miRNAオーム,上皮細胞 BEAS2Bで発見		
hsa-miR-320a	3110	4131	血液,心臓(心筋)	大腸癌細胞,心臓疾患	
hsa-miR-320b	3111	4132	中枢神経系		
hsa-miR-320c	3112	4133	軟骨細胞		軟骨代謝
hsa-miR-320d	3113	4134		がん幹細胞	
hsa-miR-320e	3114	4135	神経細胞		
hsa-miR-323a-3p	3115	4136	ニューロン	骨髄性白血病,甲状腺髄様癌	
hsa-miR-323a-5p	3116	4137	ニューロン	骨髄性白血病,甲状腺髄様癌	
hsa-miR-323b-3p	3117	4138		骨髄性白血病	
hsa-miR-323b-5p	3118	4139		骨髄性白血病	
hsa-miR-32-3p	3119	4140	血液,膠細胞	様々ながん(肺,腎臓,前立腺癌など),ウイルス感染	
hsa-miR-324-3p	3120	4141	腎臓		
hsa-miR-324-5p	3121	4142	ニューロン	腫瘍細胞	
hsa-miR-325	3122	4143	ニューロン,胎盤		
hsa-miR-32-5p	3123	4144	血液,膠細胞	様々ながん(肺,腎臓,前立腺癌など),ウイルス感染	
hsa-miR-326	3124	4145	ニューロン	腫瘍細胞	
hsa-miR-328	3125	4146	ニューロン,血液	腫瘍細胞	
hsa-miR-329	3126	4147	脳および血小板		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 2 6】

hsa-miR-330-3p	3127	4148		様々ながん(前立腺癌,神経膠芽腫,結腸直腸癌)	
hsa-miR-330-5p	3128	4149		様々ながん(前立腺癌,神経膠芽腫,結腸直腸癌)	
hsa-miR-331-3p	3129	4150		胃癌	
hsa-miR-331-5p	3130	4151	リンパ球		
hsa-miR-335-3p	3131	4152	腎臓,胸	RCC,多発性骨髄腫	
hsa-miR-335-5p	3132	4153	腎臓,胸	RCC,多発性骨髄腫	
hsa-miR-337-3p	3133	4154	肺	胃癌	
hsa-miR-337-5p	3134	4155	肺		
hsa-miR-338-3p	3135	4156	上皮細胞,乏突起膠細胞	胃癌,直腸癌細胞,骨肉腫	
hsa-miR-338-5p	3136	4157	乏突起膠細胞	胃癌	
hsa-miR-339-3p	3137	4158	免疫細胞		
hsa-miR-339-5p	3138	4159	免疫細胞		
hsa-miR-33a-3p	3139	4160	臍島,脂質代謝		脂質代謝
hsa-miR-33a-5p	3140	4161	臍島,脂質代謝		脂質代謝
hsa-miR-33b-3p	3141	4162	脂質代謝		脂質代謝
hsa-miR-33b-5p	3142	4163	脂質代謝		脂質代謝
hsa-miR-340-3p	3143	4164		様々ながん	
hsa-miR-340-5p	3144	4165	胚様体細胞		
hsa-miR-342-3p	3145	4166	脳,循環血漿	多発性骨髄腫,他のがん	
hsa-miR-342-5p	3146	4167	循環血漿	多発性骨髄腫,他のがん	
hsa-miR-345-3p	3147	4168	造血細胞	濾胞性リンパ腫,他のがん	
hsa-miR-345-5p	3148	4169	造血細胞	濾胞性リンパ腫,他のがん	
hsa-miR-346	3149	4170	免疫細胞	がんおよび自己免疫	
hsa-miR-34a-3p	3150	4171	胸,骨髄系細胞,線毛上皮細胞	胃癌,CLL,その他	腫瘍抑制因子,p53誘導性
hsa-miR-34a-5p	3151	4172	胸,骨髄系細胞,線毛上皮細胞	胃癌,CLL,その他	腫瘍抑制因子,p53誘導性
hsa-miR-34b-3p	3152	4173	線毛上皮細胞	様々ながん	腫瘍抑制因子,p53誘導性
hsa-miR-34b-5p	3153	4174	線毛上皮細胞	様々ながん	腫瘍抑制因子,p53誘導性
hsa-miR-34c-3p	3154	4175	線毛上皮細胞,胎	様々ながん	腫瘍抑制因子

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 2 7】

			盤		子,p53誘導性
hsa-miR-34c-5p			線毛上皮細胞,胎盤	様々ながん	腫瘍抑制因子,p53誘導性
	3155	4176			
hsa-miR-3529-3p	3156	4177	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3529-5p	3157	4178	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3591-3p	3158	4179	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3591-5p	3159	4180	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3605-3p	3160	4181	生殖系で発見		
hsa-miR-3605-5p	3161	4182	生殖系で発見		
hsa-miR-3606-3p			子宮頸部腫瘍で発見		
	3162	4183			
hsa-miR-3606-5p			子宮頸部腫瘍で発見		
	3163	4184			
hsa-miR-3607-3p			子宮頸部腫瘍で発見		
	3164	4185			
hsa-miR-3607-5p			子宮頸部腫瘍で発見		
	3165	4186			
hsa-miR-3609			子宮頸部腫瘍で発見		
	3166	4187			
hsa-miR-3610			子宮頸部腫瘍で発見		
	3167	4188			
hsa-miR-3611			子宮頸部腫瘍で発見		
	3168	4189			
hsa-miR-3612			子宮頸部腫瘍で発見		
	3169	4190			
hsa-miR-3613-3p			子宮頸部腫瘍で発見		
	3170	4191			
hsa-miR-3613-5p			子宮頸部腫瘍で発見		
	3171	4192			
hsa-miR-361-3p	3172	4193	血液,内皮細胞		
hsa-miR-3614-3p			子宮頸部腫瘍および乳腺腫瘍で発見		
	3173	4194			
hsa-miR-3614-5p			子宮頸部腫瘍および乳腺腫瘍で発見		
	3174	4195			
hsa-miR-3615			子宮頸部腫瘍で発見		
	3175	4196			
hsa-miR-361-5p	3176	4197	内皮細胞		
hsa-miR-3616-3p			子宮頸部腫瘍で発見		
	3177	4198			
hsa-miR-3616-5p			子宮頸部腫瘍で発見		
	3178	4199			
hsa-miR-3617-3p			子宮頸部腫瘍および乾癬で発見		
	3179	4200			
hsa-miR-3617-5p	3180	4201	子宮頸部腫瘍お		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 2 8】

			よび乾癬で発見		
hsa-miR-3618	3181	4202	子宮頸部腫瘍で 発見		
hsa-miR-3619-3p	3182	4203	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3619-5p	3183	4204	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3620-3p	3184	4205	子宮頸部腫瘍で 発見		
hsa-miR-3620-5p	3185	4206	子宮頸部腫瘍で 発見		
hsa-miR-3621	3186	4207	子宮頸部腫瘍で 発見		
hsa-miR-3622a- 3p	3187	4208	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3622a- 5p	3188	4209	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3622b- 3p	3189	4210	子宮頸部腫瘍で 発見		
hsa-miR-3622b- 5p	3190	4211	子宮頸部腫瘍で 発見		
hsa-miR-362-3p	3191	4212		黒色腫	
hsa-miR-362-5p	3192	4213		黒色腫	
hsa-miR-363-3p	3193	4214	腎臓幹細胞,血液 細胞		
hsa-miR-363-5p	3194	4215	腎臓幹細胞,血液 細胞		
hsa-miR-3646	3195	4216	固形腫瘍で発見		
hsa-miR-3648	3196	4217	固形腫瘍で発見		
hsa-miR-3649	3197	4218	固形腫瘍で発見		
hsa-miR-3650	3198	4219	固形腫瘍で発見		
hsa-miR-3651	3199	4220	固形腫瘍で発見		
hsa-miR-3652	3200	4221	固形腫瘍で発見		
hsa-miR-3653	3201	4222	固形腫瘍で発見		
hsa-miR-3654	3202	4223	固形腫瘍で発見		
hsa-miR-3655	3203	4224	固形腫瘍で発見		
hsa-miR-3656	3204	4225	固形腫瘍で発見		
hsa-miR-3657	3205	4226	固形腫瘍で発見		
hsa-miR-3658	3206	4227	固形腫瘍で発見		
hsa-miR-3659	3207	4228	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-365a-3p	3208	4229		様々ながん細胞 (免疫細胞,肺,大 腸,子宮内膜症)	アポトーシス
hsa-miR-365a-5p	3209	4230		様々ながん細胞 (免疫細胞,肺,大 腸癌,子宮内膜 癌)	アポトーシス
hsa-miR-365b-3p	3210	4231		様々ながん(網	アポトーシス

10

20

30

【表 0010-29】

				膜芽細胞腫,大腸癌,子宮内膜癌)	
hsa-miR-365b-5p				様々ながん(大腸癌,子宮内膜癌)	アポトーシス
	3211	4232			
hsa-miR-3660	3212	4233	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3661	3213	4234	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3662	3214	4235			
hsa-miR-3663-3p	3215	4236			
hsa-miR-3663-5p	3216	4237			
hsa-miR-3664-3p	3217	4238	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3664-5p	3218	4239	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3665	3219	4240	脳		
hsa-miR-3666	3220	4241	脳		
hsa-miR-3667-3p	3221	4242	末梢血液で発見		
hsa-miR-3667-5p	3222	4243	末梢血液で発見		
hsa-miR-3668	3223	4244	末梢血液で発見		
hsa-miR-3669	3224	4245	末梢血液で発見		
hsa-miR-3670	3225	4246	末梢血液で発見		
hsa-miR-3671	3226	4247	末梢血液で発見		
hsa-miR-3672	3227	4248	末梢血液で発見		
hsa-miR-3673	3228	4249	末梢血液で発見		
hsa-miR-367-3p	3229	4250	胚幹細胞		再プログラム
hsa-miR-3674	3230	4251	末梢血液で発見		
hsa-miR-3675-3p	3231	4252	末梢血液で発見		
hsa-miR-3675-5p	3232	4253	末梢血液で発見		
hsa-miR-367-5p	3233	4254	胚幹細胞		再プログラム
hsa-miR-3676-3p	3234	4255	末梢血液で発見		
hsa-miR-3676-5p	3235	4256	末梢血液で発見		
hsa-miR-3677-3p	3236	4257	末梢血液で発見		
hsa-miR-3677-5p	3237	4258	末梢血液で発見		
hsa-miR-3678-3p	3238	4259	末梢血液で発見		
hsa-miR-3678-5p	3239	4260	末梢血液で発見		
hsa-miR-3679-3p	3240	4261	末梢血液で発見		
hsa-miR-3679-5p	3241	4262	末梢血液で発見		
hsa-miR-3680-3p	3242	4263	末梢血液で発見		
hsa-miR-3680-5p	3243	4264	末梢血液で発見		
hsa-miR-3681-3p	3244	4265	末梢血液で発見		
hsa-miR-3681-5p	3245	4266	末梢血液で発見		
hsa-miR-3682-3p	3246	4267	末梢血液で発見		
hsa-miR-3682-5p	3247	4268	末梢血液で発見		
hsa-miR-3683	3248	4269	末梢血液で発見		
hsa-miR-3684	3249	4270	末梢血液で発見		
hsa-miR-3685	3250	4271	末梢血液で発見		
hsa-miR-3686	3251	4272	末梢血液で発見		

10

20

30

【表 0010-30】

hsa-miR-3687	3252	4273	末梢血液で発見		
hsa-miR-3688-3p	3253	4274	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3688-5p	3254	4275	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3689a-3p	3255	4276	女性の生殖器官系で発見		
hsa-miR-3689a-5p	3256	4277	女性の生殖器官系および末梢血液で発見		
hsa-miR-3689b-3p	3257	4278	女性の生殖器官系および末梢血液で発見		
hsa-miR-3689b-5p	3258	4279	女性の生殖器官系で発見		
hsa-miR-3689c	3259	4280	B細胞で発見		
hsa-miR-3689d	3260	4281	B細胞で発見		
hsa-miR-3689e	3261	4282	B細胞で発見		
hsa-miR-3689f	3262	4283	B細胞で発見		
hsa-miR-3690	3263	4284	末梢血液で発見		
hsa-miR-3691-3p	3264	4285	末梢血液で発見		
hsa-miR-3691-5p	3265	4286	末梢血液で発見		
hsa-miR-3692-3p	3266	4287	末梢血液で発見		
hsa-miR-3692-5p	3267	4288	末梢血液で発見		
hsa-miR-369-3p	3268	4289	幹細胞		再プログラム
hsa-miR-369-5p	3269	4290	幹細胞		再プログラム
hsa-miR-370	3270	4291	急性骨髄性白血病および他のがん	腫瘍抑制因子, 脂質代謝	
hsa-miR-3713	3271	4292	神経芽細胞腫で発見		
hsa-miR-3714	3272	4293	神経芽細胞腫で発見		
hsa-miR-371a-3p	3273	4294	血清		
hsa-miR-371a-5p	3274	4295	血清		
hsa-miR-371b-3p	3275	4296	血清		
hsa-miR-371b-5p	3276	4297	血清		
hsa-miR-372	3277	4298	造血細胞, 肺, 胎盤 (血液)		
hsa-miR-373-3p	3278	4299		乳癌	
hsa-miR-373-5p	3279	4300		乳癌	
hsa-miR-374a-3p	3280	4301	筋肉(筋原細胞)	乳癌および肺癌	筋肉分化
hsa-miR-374a-5p	3281	4302	筋肉(筋原細胞)	乳癌および肺癌	筋肉分化
hsa-miR-374b-3p	3282	4303	筋肉(筋原細胞)		筋肉分化
hsa-miR-374b-5p	3283	4304	筋肉(筋原細胞)		筋肉分化
hsa-miR-374c-3p	3284	4305	筋肉(筋原細胞)		筋肉分化
hsa-miR-374c-5p	3285	4306	筋肉(筋原細胞)		筋肉分化
hsa-miR-375	3286	4307	膵臓(膵島)		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 3 1】

hsa-miR-376a-2-5p	3287	4308	造血細胞(赤血球, 血小板, リンパ)のための制御 miR		
hsa-miR-376a-3p	3288	4309	造血細胞(赤血球, 血小板, リンパ)のための制御 miR		
hsa-miR-376a-5p	3289	4310	造血細胞(赤血球, 血小板, リンパ)のための制御 miR		
hsa-miR-376b-3p	3290	4311	血液	様々ながん細胞	オートファジー
hsa-miR-376b-5p	3291	4312	血液	様々ながん細胞	オートファジー
hsa-miR-376c-3p	3292	4313	栄養芽細胞	様々ながん細胞	細胞分化
hsa-miR-376c-5p	3293	4314	栄養芽細胞	様々ながん細胞	細胞分化
hsa-miR-377-3p	3294	4315	造血細胞		
hsa-miR-377-5p	3295	4316	造血細胞		
hsa-miR-378a-3p	3296	4317	卵巣, 脂質代謝		
hsa-miR-378a-5p	3297	4318	卵巣, 胎盤/栄養芽細胞, 脂質代謝		
hsa-miR-378b	3298	4319	脂質代謝		
hsa-miR-378c	3299	4320	脂質代謝		
hsa-miR-378d	3300	4321	脂質代謝		
hsa-miR-378e	3301	4322	脂質代謝		
hsa-miR-378f	3302	4323	脂質代謝		
hsa-miR-378g	3303	4324	脂質代謝		
hsa-miR-378h	3304	4325	脂質代謝		
hsa-miR-378i	3305	4326	脂質代謝		
hsa-miR-378j	3306	4327	脂質代謝		
hsa-miR-379-3p	3307	4328		様々ながん(乳癌, 肝細胞, 大腸癌)	
hsa-miR-379-5p	3308	4329		様々ながん(乳癌, 肝細胞, 大腸癌)	
hsa-miR-380-3p	3309	4330	脳	神経芽細胞腫	
hsa-miR-380-5p	3310	4331	脳, 胚幹細胞	神経芽細胞腫	
hsa-miR-381-3p	3311	4332	軟骨形成, 肺, 脳		
hsa-miR-381-5p	3312	4333	軟骨形成, 肺, 脳		
hsa-miR-382-3p	3313	4334	腎上皮細胞		
hsa-miR-382-5p	3314	4335	腎上皮細胞		
hsa-miR-383	3315	4336	精巣, 脳(髄)		
hsa-miR-384	3316	4337	上皮細胞		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 3 2】

hsa-miR-3907			女性の生殖器官系 で発見		
	3317	4338			
hsa-miR-3908			女性の生殖器官系 で発見		
	3318	4339			
hsa-miR-3909			女性の生殖器官系 で発見		
	3319	4340			
hsa-miR-3910			女性の生殖器官系 で発見		
	3320	4341			
hsa-miR-3911			乳腺腫瘍および 女性の生殖器官系 で発見		
	3321	4342			
hsa-miR-3912			女性の生殖器官系 で発見		
	3322	4343			
hsa-miR-3913-3p			乳腺腫瘍および 女性の生殖器官系 で発見		
	3323	4344			
hsa-miR-3913-5p			乳腺腫瘍および 女性の生殖器官系 で発見		
	3324	4345			
hsa-miR-3914			乳腺腫瘍および 女性の生殖器官系 で発見		
	3325	4346			
hsa-miR-3915			女性の生殖器官系 で発見		
	3326	4347			
hsa-miR-3916			女性の生殖器官系 で発見		
	3327	4348			
hsa-miR-3917			女性の生殖器官系 で発見		
	3328	4349			
hsa-miR-3918			女性の生殖器官系 で発見		
	3329	4350			
hsa-miR-3919			女性の生殖器官系 で発見		
	3330	4351			
hsa-miR-3920			女性の生殖器官系 で発見		
	3331	4352			
hsa-miR-3921			女性の生殖器官系 で発見		
	3332	4353			
hsa-miR-3922-3p			乳腺腫瘍および 女性の生殖器官系 で発見		
	3333	4354			
hsa-miR-3922-5p			乳腺腫瘍および 女性の生殖器官系 で発見		
	3334	4355			
hsa-miR-3923			女性の生殖器官系 で発見		
	3335	4356			
hsa-miR-3924			女性の生殖器官系 で発見		
	3336	4357			

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 3 3】

hsa-miR-3925-3p	3337	4358	乳腺腫瘍および 女性の生殖器官系 で発見		
hsa-miR-3925-5p	3338	4359	乳腺腫瘍および 女性の生殖器官系 で発見		
hsa-miR-3926	3339	4360	女性の生殖器官系 で発見		
hsa-miR-3927-3p	3340	4361	女性の生殖器官系 および乾癬で発見		
hsa-miR-3927-5p	3341	4362	女性の生殖器官系 および乾癬で発見		
hsa-miR-3928	3342	4363	女性の生殖器官系 で発見		
hsa-miR-3929	3343	4364	女性の生殖器官系 で発見		
hsa-miR-3934-3p	3344	4365	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-3934-5p	3345	4366	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-3935	3346	4367			
hsa-miR-3936	3347	4368	乳腺腫瘍および リンパ性白血病 で発見		
hsa-miR-3937	3348	4369			
hsa-miR-3938	3349	4370			
hsa-miR-3939	3350	4371			
hsa-miR-3940-3p	3351	4372	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3940-5p	3352	4373	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3941	3353	4374			
hsa-miR-3942-3p	3354	4375	乳腺腫瘍および リンパ性白血病 で発見		
hsa-miR-3942-5p	3355	4376	乳腺腫瘍および リンパ性白血病 で発見		
hsa-miR-3943	3356	4377			
hsa-miR-3944-3p	3357	4378	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3944-5p	3358	4379	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-3945	3359	4380			
hsa-miR-3960	3360	4381	骨芽細胞		
hsa-miR-3972	3361	4382	急性骨髄性白血 病で発見		
hsa-miR-3973	3362	4383	急性骨髄性白血 病で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 3 4】

hsa-miR-3974			急性骨髄性白血病で発見		
	3363	4384			
hsa-miR-3975			急性骨髄性白血病で発見		
	3364	4385			
hsa-miR-3976			急性骨髄性白血病で発見		
	3365	4386			
hsa-miR-3977			急性骨髄性白血病で発見		
	3366	4387			
hsa-miR-3978			急性骨髄性白血病で発見		
	3367	4388			
hsa-miR-409-3p	3368	4389		胃癌	
hsa-miR-409-5p	3369	4390		胃癌	
hsa-miR-410	3370	4391	脳	神経膠腫	
hsa-miR-411-3p				神経膠芽腫その他	
	3371	4392			
hsa-miR-411-5p				神経膠芽腫その他	
	3372	4393			
hsa-miR-412	3373	4394		肺癌で上方制御	
hsa-miR-421	3374	4395	内皮細胞	胃癌,HCC	
hsa-miR-422a			循環microRNA(血漿中)		
	3375	4396			
hsa-miR-423-3p	3376	4397	胚幹細胞		
hsa-miR-423-5p	3377	4398	心臓,胚幹細胞		
hsa-miR-424-3p			内皮細胞	様々ながん(例えばB系統ALL),心疾患	血管新生促進
	3378	4399			
hsa-miR-424-5p			内皮細胞	様々ながん(例えばB系統ALL),心疾患	血管新生促進
	3379	4400			
hsa-miR-4251			胚幹細胞および神経前駆体で発見		
	3380	4401			
hsa-miR-4252			胚幹細胞および神経前駆体で発見		
	3381	4402			
hsa-miR-4253			胚幹細胞および神経前駆体で発見		
	3382	4403			
hsa-miR-425-3p	3383	4404	脳	卵巣癌,脳腫瘍	
hsa-miR-4254			胚幹細胞および神経前駆体で発見		
	3384	4405			
hsa-miR-4255			胚幹細胞および神経前駆体で発見		
	3385	4406			

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 3 5】

hsa-miR-425-5p	3386	4407	脳	B系統ALL, 脳腫瘍	
hsa-miR-4256	3387	4408	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4257	3388	4409	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4258	3389	4410	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4259	3390	4411	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4260	3391	4412	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4261	3392	4413	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4262	3393	4414	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4263	3394	4415	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4264	3395	4416	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4265	3396	4417	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4266	3397	4418	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4267	3398	4419	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4268	3399	4420	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4269	3400	4421	胚幹細胞および神経前駆体で見		
hsa-miR-4270	3401	4422	胚幹細胞および神経前駆体で見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 3 6】

			見		
hsa-miR-4271	3402	4423	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4272	3403	4424	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4273	3404	4425			
hsa-miR-4274	3405	4426	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4275	3406	4427	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4276	3407	4428	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4277	3408	4429	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4278	3409	4430	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4279	3410	4431	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4280	3411	4432	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4281	3412	4433	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4282	3413	4434	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4283	3414	4435	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4284	3415	4436	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4285	3416	4437	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4286	3417	4438	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 3 7】

			見		
hsa-miR-4287	3418	4439	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4288	3419	4440	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4289	3420	4441	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-429	3421	4442	上皮細胞	様々ながん(結 腸直腸癌,子宮 内膜癌,胃癌,卵 巣癌など)	
hsa-miR-4290	3422	4443	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4291	3423	4444	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4292	3424	4445	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4293	3425	4446	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4294	3426	4447	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4295	3427	4448	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4296	3428	4449	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4297	3429	4450	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4298	3430	4451	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4299	3431	4452	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4300	3432	4453	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 3 8】

			見		
hsa-miR-4301	3433	4454	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4302	3434	4455	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4303	3435	4456	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4304	3436	4457	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4305	3437	4458	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4306	3438	4459	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4307	3439	4460	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4308	3440	4461	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4309	3441	4462	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4310	3442	4463	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4311	3443	4464	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4312	3444	4465	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4313	3445	4466	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-431-3p	3446	4467		がん(濾胞性リ ンパ腫)	
hsa-miR-4314	3447	4468	胚幹細胞および 神経前駆体で発 見		
hsa-miR-4315	3448	4469	胚幹細胞および		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 3 9】

			神経前駆体で発見		
hsa-miR-431-5p	3449	4470		がん(濾胞性リンパ腫)	
hsa-miR-4316	3450	4471	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-4317	3451	4472	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-4318	3452	4473	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-4319	3453	4474	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-4320	3454	4475	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-4321	3455	4476	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-4322	3456	4477	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-4323	3457	4478	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-432-3p	3458	4479	筋原細胞		筋肉分化
hsa-miR-4324	3459	4480	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-4325	3460	4481	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-432-5p	3461	4482	筋原細胞		筋肉分化
hsa-miR-4326	3462	4483	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-4327	3463	4484	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-4328	3464	4485	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-4329	3465	4486	胚幹細胞および		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 4 0】

			神経前駆体で発見		
hsa-miR-433	3466	4487		様々な疾患(がん,パーキンソン病,軟骨異形成)	
hsa-miR-4330	3467	4488	胚幹細胞および神経前駆体で発見		
hsa-miR-4417	3468	4489	B細胞で発見		
hsa-miR-4418	3469	4490	B細胞で発見		
hsa-miR-4419a	3470	4491	B細胞で発見		
hsa-miR-4419b	3471	4492	B細胞で発見		
hsa-miR-4420	3472	4493	B細胞で発見		
hsa-miR-4421	3473	4494	B細胞で発見		
hsa-miR-4422	3474	4495	乳腺腫瘍およびB細胞で発見		
hsa-miR-4423-3p	3475	4496	乳腺腫瘍,B細胞および皮膚(乾癬)で発見		
hsa-miR-4423-5p	3476	4497	乳腺腫瘍B細胞および皮膚(乾癬)で発見		
hsa-miR-4424	3477	4498	B細胞で発見		
hsa-miR-4425	3478	4499	B細胞で発見		
hsa-miR-4426	3479	4500	B細胞で発見		
hsa-miR-4427	3480	4501	B細胞で発見		
hsa-miR-4428	3481	4502	B細胞で発見		
hsa-miR-4429	3482	4503	B細胞で発見		
hsa-miR-4430	3483	4504	B細胞で発見		
hsa-miR-4431	3484	4505	B細胞で発見		
hsa-miR-4432	3485	4506	B細胞で発見		
hsa-miR-4433-3p	3486	4507	B細胞で発見		
hsa-miR-4433-5p	3487	4508	B細胞で発見		
hsa-miR-4434	3488	4509	B細胞で発見		
hsa-miR-4435	3489	4510	B細胞で発見		
hsa-miR-4436a	3490	4511	乳腺腫瘍およびB細胞で発見		
hsa-miR-4436b-3p	3491	4512	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4436b-5p	3492	4513	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4437	3493	4514	B細胞で発見		
hsa-miR-4438	3494	4515	B細胞で発見		
hsa-miR-4439	3495	4516	B細胞で発見		
hsa-miR-4440	3496	4517	B細胞で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 4 1】

hsa-miR-4441	3497	4518	B細胞で発見		
hsa-miR-4442	3498	4519	B細胞で発見		
hsa-miR-4443	3499	4520	B細胞で発見		
hsa-miR-4444	3500	4521	B細胞で発見		
hsa-miR-4445-3p	3501	4522	B細胞で発見		
hsa-miR-4445-5p	3502	4523	B細胞で発見		
hsa-miR-4446-3p			乳腺腫瘍および		
	3503	4524	B細胞で発見		
hsa-miR-4446-5p			乳腺腫瘍および		
	3504	4525	B細胞で発見		
hsa-miR-4447	3505	4526	B細胞で発見		
hsa-miR-4448	3506	4527	B細胞で発見		
hsa-miR-4449	3507	4528	B細胞で発見		
hsa-miR-4450	3508	4529	B細胞で発見		
hsa-miR-4451	3509	4530	B細胞で発見		
hsa-miR-4452	3510	4531	B細胞で発見		
hsa-miR-4453	3511	4532	B細胞で発見		
hsa-miR-4454	3512	4533	B細胞で発見		
hsa-miR-4455	3513	4534	B細胞で発見		
hsa-miR-4456	3514	4535	B細胞で発見		
hsa-miR-4457	3515	4536	B細胞で発見		
hsa-miR-4458	3516	4537	B細胞で発見		
hsa-miR-4459	3517	4538	B細胞で発見		
hsa-miR-4460	3518	4539	B細胞で発見		
hsa-miR-4461	3519	4540	B細胞で発見		
hsa-miR-4462	3520	4541	B細胞で発見		
hsa-miR-4463	3521	4542	B細胞で発見		
hsa-miR-4464	3522	4543	B細胞で発見		
hsa-miR-4465	3523	4544	B細胞で発見		
hsa-miR-4466	3524	4545	B細胞で発見		
hsa-miR-4467			乳腺腫瘍および		
	3525	4546	B細胞で発見		
hsa-miR-4468	3526	4547	B細胞で発見		
hsa-miR-4469			乳腺腫瘍および		
	3527	4548	B細胞で発見		
hsa-miR-4470	3528	4549	B細胞で発見		
hsa-miR-4471			乳腺腫瘍および		
	4550	5571	B細胞で発見		
hsa-miR-4472	4551	5572	B細胞で発見		
hsa-miR-4473	4552	5573	B細胞で発見		
hsa-miR-4474-3p			乳腺腫瘍で発見、		
			リンパ性白血病		
	4553	5574	およびB細胞		
hsa-miR-4474-5p			乳腺腫瘍、リンパ		
			性白血病および		
	4554	5575	B細胞で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 4 2】

hsa-miR-4475	4555	5576	B細胞で発見		
hsa-miR-4476	4556	5577	B細胞で発見		
hsa-miR-4477a	4557	5578	B細胞で発見		
hsa-miR-4477b	4558	5579	B細胞で発見		
hsa-miR-4478	4559	5580	B細胞で発見		
hsa-miR-4479	4560	5581	B細胞で発見		
hsa-miR-448	4561	5582	肝臓(肝細胞)	HCC	
hsa-miR-4480	4562	5583	B細胞で発見		
hsa-miR-4481	4563	5584	B細胞で発見		
hsa-miR-4482-3p	4564	5585	B細胞で発見		
hsa-miR-4482-5p	4565	5586	B細胞で発見		
hsa-miR-4483	4566	5587	B細胞で発見		
hsa-miR-4484	4567	5588	B細胞で発見		
hsa-miR-4485	4568	5589	B細胞で発見		
hsa-miR-4486	4569	5590	B細胞で発見		
hsa-miR-4487	4570	5591	B細胞で発見		
hsa-miR-4488	4571	5592	B細胞で発見		
hsa-miR-4489			乳腺腫瘍および		
	4572	5593	B細胞で発見		
hsa-miR-4490	4573	5594	B細胞で発見		
hsa-miR-4491	4574	5595	B細胞で発見		
hsa-miR-4492	4575	5596	B細胞で発見		
hsa-miR-4493	4576	5597	B細胞で発見		
hsa-miR-4494	4577	5598	B細胞で発見		
hsa-miR-4495	4578	5599	B細胞で発見		
hsa-miR-4496	4579	5600	B細胞で発見		
hsa-miR-4497	4580	5601	B細胞で発見		
hsa-miR-4498	4581	5602	B細胞で発見		
hsa-miR-4499	4582	5603	B細胞で発見		
hsa-miR-449a			軟骨細胞,線毛上	肺癌,大腸癌,卵	細胞周期進行
	4583	5604	皮細胞	巣癌	および増殖
hsa-miR-449b-3p			線毛上皮細胞,他	様々ながん細胞	細胞周期進行
	4584	5605	の組織		および増殖
hsa-miR-449b-5p			線毛上皮細胞,他	様々ながん細胞	細胞周期進行
	4585	5606	の組織		および増殖
hsa-miR-449c-3p	4586	5607		卵巣上皮癌細胞	
hsa-miR-449c-5p	4587	5608		卵巣上皮癌細胞	
hsa-miR-4500	4588	5609	B細胞で発見		
hsa-miR-4501	4589	5610	B細胞で発見		
hsa-miR-4502	4590	5611	B細胞で発見		
hsa-miR-4503	4591	5612	B細胞で発見		
hsa-miR-4504	4592	5613	B細胞で発見		
hsa-miR-4505	4593	5614	B細胞で発見		
hsa-miR-4506	4594	5615	B細胞で発見		
hsa-miR-4507	4595	5616	B細胞で発見		
hsa-miR-4508	4596	5617	B細胞で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 4 3】

hsa-miR-4509	4597	5618	B細胞で発見		
hsa-miR-450a-3p	4598	5619			
hsa-miR-450a-5p	4599	5620			
hsa-miR-450b-3p	4600	5621			
hsa-miR-450b-5p	4601	5622			
hsa-miR-4510	4602	5623	B細胞で発見		
hsa-miR-4511	4603	5624	B細胞で発見		
hsa-miR-4512	4604	5625	B細胞で発見		
hsa-miR-4513	4605	5626	B細胞で発見		
hsa-miR-4514	4606	5627	B細胞で発見		
hsa-miR-4515	4607	5628	B細胞で発見		
hsa-miR-4516	4608	5629	B細胞で発見		
hsa-miR-4517	4609	5630	B細胞で発見		
hsa-miR-4518	4610	5631	B細胞で発見		
hsa-miR-4519	4611	5632	B細胞で発見		
hsa-miR-451a			心臓, 中枢神経系, 上皮細胞		
hsa-miR-451b	4612	5633	心臓, 中枢神経系, 上皮細胞		
	4613	5634	心臓, 中枢神経系, 上皮細胞		
hsa-miR-4520a-3p			乳腺腫瘍および B細胞で発見, 皮膚(乾癬)		
	4614	5635	乳腺腫瘍および B細胞で発見, 皮膚(乾癬)		
hsa-miR-4520a-5p			乳腺腫瘍および B細胞で発見, 皮膚(乾癬)		
	4615	5636	乳腺腫瘍および B細胞で発見, 皮膚(乾癬)		
hsa-miR-4520b-3p	4616	5637	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4520b-5p	4617	5638	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4521	4618	5639	B細胞で発見		
hsa-miR-4522	4619	5640	B細胞で発見		
hsa-miR-4523	4620	5641	B細胞で発見		
hsa-miR-452-3p			筋原細胞	膀胱癌およびその他	
	4621	5642	筋原細胞	膀胱癌およびその他	
hsa-miR-4524a-3p			乳腺腫瘍および B細胞で発見, 皮膚(乾癬)		
	4622	5643	乳腺腫瘍および B細胞で発見, 皮膚(乾癬)		
hsa-miR-4524a-5p			乳腺腫瘍および B細胞で発見, 皮膚(乾癬)		
	4623	5644	乳腺腫瘍および B細胞で発見, 皮膚(乾癬)		
hsa-miR-4524b-3p			乳腺腫瘍および B細胞で発見, 皮膚(乾癬)		
	4624	5645	乳腺腫瘍および B細胞で発見, 皮膚(乾癬)		
hsa-miR-4524b-5p			乳腺腫瘍および B細胞で発見, 皮膚(乾癬)		
	4625	5646	乳腺腫瘍および B細胞で発見, 皮膚(乾癬)		
hsa-miR-4525	4626	5647	B細胞で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 4 4】

hsa-miR-452-5p			筋原細胞	膀胱癌およびそ の他	
	4627	5648			
hsa-miR-4526			乳腺腫瘍および B細胞で発見		
	4628	5649			
hsa-miR-4527	4629	5650	B細胞で発見		
hsa-miR-4528	4630	5651	B細胞で発見		
hsa-miR-4529-3p			乳腺腫瘍および B細胞で発見		
	4631	5652			
hsa-miR-4529-5p			乳腺腫瘍および B細胞で発見		
	4632	5653			
hsa-miR-4530	4633	5654	B細胞で発見		
hsa-miR-4531	4634	5655	B細胞で発見		
hsa-miR-4532	4635	5656	B細胞で発見		
hsa-miR-4533	4636	5657	B細胞で発見		
hsa-miR-4534	4637	5658	B細胞で発見		
hsa-miR-4535	4638	5659	B細胞で発見		
hsa-miR-4536-3p	4639	5660	B細胞で発見		
hsa-miR-4536-5p	4640	5661	B細胞で発見		
hsa-miR-4537	4641	5662	B細胞で発見		
hsa-miR-4538	4642	5663	B細胞で発見		
hsa-miR-4539	4643	5664	B細胞で発見		
hsa-miR-4540	4644	5665	B細胞で発見		
hsa-miR-454-3p			胚様体細胞,中枢 神経系,単球		
	4645	5666			
hsa-miR-454-5p			胚様体細胞,中枢 神経系,単球		
	4646	5667			
hsa-miR-455-3p				基底細胞癌,他 のがん	
	4647	5668			
hsa-miR-455-5p				基底細胞癌,他 のがん	
	4648	5669			
hsa-miR-4632-3p	4649	5670	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4632-5p	4650	5671	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4633-3p	4651	5672	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4633-5p	4652	5673	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4634	4653	5674	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4635	4654	5675	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4636	4655	5676	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4637			乳腺腫瘍および リンパ性白血病 で発見		
	4656	5677			
hsa-miR-4638-3p	4657	5678	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4638-5p	4658	5679	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4639-3p	4659	5680	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4639-5p	4660	5681	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4640-3p	4661	5682	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4640-5p	4662	5683	乳腺腫瘍で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 4 5】

hsa-miR-4641	4663	5684	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4642	4664	5685	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4643	4665	5686	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4644	4666	5687	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4645-3p	4667	5688	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4645-5p	4668	5689	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4646-3p	4669	5690	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4646-5p	4670	5691	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4647	4671	5692	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4648	4672	5693	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4649-3p	4673	5694	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4649-5p	4674	5695	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4650-3p	4675	5696	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4650-5p	4676	5697	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4651	4677	5698	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4652-3p	4678	5699	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4652-5p	4679	5700	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4653-3p	4680	5701	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4653-5p	4681	5702	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4654	4682	5703	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4655-3p	4683	5704	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4655-5p	4684	5705	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4656	4685	5706	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4657	4686	5707	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4658	4687	5708	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4659a-3p	4688	5709	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4659a-5p	4689	5710	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4659b-3p	4690	5711	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4659b-5p	4691	5712	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-466	4692	5713			
hsa-miR-4660	4693	5714	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4661-3p	4694	5715	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4661-5p	4695	5716	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4662a-3p	4696	5717	乳腺腫瘍で発見, 乾癬		
hsa-miR-4662a-5p	4697	5718	乳腺腫瘍で発見, 乾癬		
hsa-miR-4662b	4698	5719	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4663	4699	5720	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4664-3p	4700	5721	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4664-5p	4701	5722	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4665-3p	4702	5723	乳腺腫瘍で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 4 6】

hsa-miR-4665-5p	4703	5724	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4666a-3p	4704	5725	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4666a-5p	4705	5726	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4666b	4706	5727			
hsa-miR-4667-3p	4707	5728	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4667-5p	4708	5729	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4668-3p	4709	5730	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4668-5p	4710	5731	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4669	4711	5732	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4670-3p	4712	5733	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4670-5p	4713	5734	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4671-3p	4714	5735	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4671-5p	4715	5736	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4672	4716	5737	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4673	4717	5738	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4674	4718	5739	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4675	4719	5740	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4676-3p	4720	5741	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4676-5p	4721	5742	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4677-3p	4722	5743	乳腺腫瘍で発見, 乾癬		
hsa-miR-4677-5p	4723	5744	乳腺腫瘍で発見, 乾癬		
hsa-miR-4678	4724	5745	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4679	4725	5746	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4680-3p	4726	5747	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4680-5p	4727	5748	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4681	4728	5749	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4682	4729	5750	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4683	4730	5751	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4684-3p	4731	5752	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4684-5p	4732	5753	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4685-3p	4733	5754	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4685-5p	4734	5755	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4686	4735	5756	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4687-3p	4736	5757	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4687-5p	4737	5758	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4688	4738	5759	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4689	4739	5760	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4690-3p	4740	5761	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4690-5p	4741	5762	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4691-3p	4742	5763	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4691-5p	4743	5764	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4692	4744	5765	乳腺腫瘍で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 4 7】

hsa-miR-4693-3p	4745	5766	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4693-5p	4746	5767	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4694-3p	4747	5768	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4694-5p	4748	5769	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4695-3p	4749	5770	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4695-5p	4750	5771	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4696	4751	5772	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4697-3p	4752	5773	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4697-5p	4753	5774	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4698	4754	5775	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4699-3p	4755	5776	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4699-5p	4756	5777	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4700-3p	4757	5778	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4700-5p	4758	5779	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4701-3p	4759	5780	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4701-5p	4760	5781	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4703-3p	4761	5782	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4703-5p	4762	5783	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4704-3p	4763	5784	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4704-5p	4764	5785	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4705	4765	5786	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4706	4766	5787	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4707-3p	4767	5788	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4707-5p	4768	5789	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4708-3p	4769	5790	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4708-5p	4770	5791	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4709-3p	4771	5792	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4709-5p	4772	5793	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4710	4773	5794	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4711-3p	4774	5795	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4711-5p	4775	5796	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4712-3p	4776	5797	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4712-5p	4777	5798	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4713-3p	4778	5799	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4713-5p	4779	5800	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4714-3p	4780	5801	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4714-5p	4781	5802	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4715-3p	4782	5803	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4715-5p	4783	5804	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4716-3p	4784	5805	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4716-5p	4785	5806	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4717-3p	4786	5807	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4717-5p	4787	5808	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4718	4788	5809	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4719	4789	5810	乳腺腫瘍で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 4 8】

hsa-miR-4720-3p	4790	5811	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4720-5p	4791	5812	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4721	4792	5813	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4722-3p	4793	5814	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4722-5p	4794	5815	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4723-3p	4795	5816	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4723-5p	4796	5817	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4724-3p	4797	5818	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4724-5p	4798	5819	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4725-3p	4799	5820	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4725-5p	4800	5821	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4726-3p	4801	5822	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4726-5p	4802	5823	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4727-3p	4803	5824	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4727-5p	4804	5825	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4728-3p	4805	5826	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4728-5p	4806	5827	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4729	4807	5828	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4730	4808	5829	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4731-3p	4809	5830	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4731-5p	4810	5831	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4732-3p	4811	5832	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4732-5p	4812	5833	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4733-3p	4813	5834	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4733-5p	4814	5835	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4734	4815	5836	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4735-3p	4816	5837	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4735-5p	4817	5838	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4736	4818	5839	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4737	4819	5840	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4738-3p	4820	5841	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4738-5p	4821	5842	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4739	4822	5843	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4740-3p	4823	5844	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4740-5p	4824	5845	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4741			乳腺腫瘍で発見,		
	4825	5846	乾癬		
hsa-miR-4742-3p			乳腺腫瘍で発見,		
	4826	5847	乾癬		
hsa-miR-4742-5p	4827	5848	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4743-3p	4828	5849	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4743-5p	4829	5850	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4744	4830	5851	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4745-3p	4831	5852	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4745-5p	4832	5853	乳腺腫瘍で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 4 9】

hsa-miR-4746-3p	4833	5854	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4746-5p	4834	5855	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4747-3p	4835	5856	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4747-5p	4836	5857	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4748	4837	5858	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4749-3p	4838	5859	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4749-5p	4839	5860	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4750-3p	4840	5861	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4750-5p	4841	5862	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4751	4842	5863	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4752	4843	5864	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4753-3p	4844	5865	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4753-5p	4845	5866	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4754	4846	5867	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4755-3p	4847	5868	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4755-5p	4848	5869	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4756-3p	4849	5870	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4756-5p	4850	5871	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4757-3p	4851	5872	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4757-5p	4852	5873	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4758-3p	4853	5874	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4758-5p	4854	5875	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4759	4855	5876	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4760-3p	4856	5877	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4760-5p	4857	5878	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4761-3p	4858	5879	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4761-5p	4859	5880	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4762-3p	4860	5881	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4762-5p	4861	5882	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4763-3p	4862	5883	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4763-5p	4863	5884	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4764-3p	4864	5885	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4764-5p	4865	5886	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4765	4866	5887	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4766-3p	4867	5888	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4766-5p	4868	5889	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4767	4869	5890	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4768-3p	4870	5891	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4768-5p	4871	5892	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4769-3p	4872	5893	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4769-5p	4873	5894	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4770	4874	5895	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4771	4875	5896	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4772-3p			乳腺腫瘍,血中単	エネルギー代謝	
	4876	5897	核細胞で発見	/肥満	

10

20

30

【表 0010-50】

hsa-miR-4772-5p			乳腺腫瘍,血中単	エネルギー代謝	
	4877	5898	核細胞で発見	/肥満	
hsa-miR-4773	4878	5899	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4774-3p			乳腺腫瘍および		
	4879	5900	リンパ球性白血		
hsa-miR-4774-5p			病で発見		
	4880	5901	乳腺腫瘍および		
			リンパ球性白血		
			病で発見		
hsa-miR-4775	4881	5902	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4776-3p	4882	5903	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4776-5p	4883	5904	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4777-3p	4884	5905	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4777-5p	4885	5906	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4778-3p	4886	5907	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4778-5p	4887	5908	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4779	4888	5909	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4780	4889	5910	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4781-3p	4890	5911	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4781-5p	4891	5912	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4782-3p	4892	5913	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4782-5p	4893	5914	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4783-3p	4894	5915	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4783-5p	4895	5916	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4784	4896	5917	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4785	4897	5918	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4786-3p	4898	5919	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4786-5p	4899	5920	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4787-3p	4900	5921	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4787-5p	4901	5922	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4788	4902	5923	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4789-3p	4903	5924	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4789-5p	4904	5925	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4790-3p	4905	5926	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4790-5p	4906	5927	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4791	4907	5928	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4792	4908	5929	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4793-3p	4909	5930	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4793-5p	4910	5931	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4794	4911	5932	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4795-3p	4912	5933	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4795-5p	4913	5934	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4796-3p	4914	5935	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4796-5p	4915	5936	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4797-3p	4916	5937	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4797-5p	4917	5938	乳腺腫瘍で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 5 1】

hsa-miR-4798-3p	4918	5939	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4798-5p	4919	5940	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4799-3p	4920	5941	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4799-5p	4921	5942	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4800-3p	4922	5943	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4800-5p	4923	5944	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4801	4924	5945	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4802-3p			乳腺腫瘍で発見,		
	4925	5946	乾癬		
hsa-miR-4802-5p			乳腺腫瘍で発見,		
	4926	5947	乾癬		
hsa-miR-4803	4927	5948	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4804-3p	4928	5949	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-4804-5p	4929	5950	乳腺腫瘍で発見		
hsa-miR-483-3p				副腎皮質癌,直腸/膀胱癌,傷ついた上皮細胞の増殖	癌化
	4930	5951			
hsa-miR-483-5p			軟骨(軟骨細胞),胎児脳	副腎皮質癌	血管新生
	4931	5952			
hsa-miR-484					ミトコンドリアネットワーク
	4932	5953			
hsa-miR-485-3p	4933	5954			
hsa-miR-485-5p	4934	5955		卵巣上皮性腫瘍	
hsa-miR-486-3p	4935	5956	赤血球細胞	様々ながん	
hsa-miR-486-5p	4936	5957	幹細胞(脂肪)	様々ながん	
hsa-miR-487a	4937	5958		喉頭がん	
hsa-miR-487b				神経芽細胞腫,肺癌発症	
	4938	5959			
hsa-miR-488-3p				前立腺癌,その他	
	4939	5960			
hsa-miR-488-5p				前立腺癌,その他	
	4940	5961			
hsa-miR-489	4941	5962	間葉幹細胞	骨形成	
hsa-miR-490-3p				神経芽細胞腫,子宮筋腫(ULM)/筋肉	
	4942	5963			
hsa-miR-490-5p				神経芽細胞腫,子宮筋腫(ULM)/筋肉	
	4943	5964			
hsa-miR-491-3p				様々ながん,脳疾患	アポトーシス促進
	4944	5965			
hsa-miR-491-5p				様々ながん,脳疾患	アポトーシス促進
	4945	5966			
hsa-miR-492	4946	5967			

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 5 2】

hsa-miR-493-3p	4947	5968	骨髄系細胞,脾臓 (脾臓)		
hsa-miR-493-5p	4948	5969	骨髄系細胞,脾臓 (脾臓)		
hsa-miR-494	4949	5970	上皮細胞	様々ながん	細胞周期
hsa-miR-495-3p	4950	5971	血小板	様々ながん(胃 癌,MLL白血病, 脾臓など)およ び炎症	
hsa-miR-495-5p	4951	5972	血小板	様々ながん(胃 癌,MLL白血病, 脾臓など)およ び炎症	
hsa-miR-496	4952	5973	血液		
hsa-miR-497-3p	4953	5974		様々ながん(乳 癌,結腸直腸癌 など)	腫瘍抑制因子/ アポトーシス 促進
hsa-miR-497-5p	4954	5975		様々ながん(乳 癌,結腸直腸癌 など)	腫瘍抑制因子/ アポトーシス 促進
hsa-miR-498	4955	5976		自己免疫(例え ば関節リウマ チ)	
hsa-miR-4999-3p	4956	5977			
hsa-miR-4999-5p	4957	5978			
hsa-miR-499a-3p	4958	5979	心臓,心筋幹細胞	循環器疾患	心筋細胞分化
hsa-miR-499a-5p	4959	5980	心臓,心筋幹細胞	循環器疾患	心筋細胞分化
hsa-miR-499b-3p	4960	5981	心臓,心筋幹細胞	循環器疾患	心筋細胞分化
hsa-miR-499b-5p	4961	5982	心臓,心筋幹細胞	循環器疾患	心筋細胞分化
hsa-miR-5000-3p	4962	5983	リンパ性白血病 で発見		
hsa-miR-5000-5p	4963	5984	リンパ性白血病 で発見		
hsa-miR-5001-3p	4964	5985			
hsa-miR-5001-5p	4965	5986			
hsa-miR-5002-3p	4966	5987			
hsa-miR-5002-5p	4967	5988			
hsa-miR-5003-3p	4968	5989			
hsa-miR-5003-5p	4969	5990			
hsa-miR-5004-3p	4970	5991			
hsa-miR-5004-5p	4971	5992			
hsa-miR-5006-3p	4972	5993	リンパ性白血病 で発見		
hsa-miR-5006-5p	4973	5994	リンパ性白血病 で発見		
hsa-miR-5007-3p	4974	5995			
hsa-miR-5007-5p	4975	5996			

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 5 3】

hsa-miR-5008-3p	4976	5997			
hsa-miR-5008-5p	4977	5998			
hsa-miR-5009-3p	4978	5999			
hsa-miR-5009-5p	4979	6000			
hsa-miR-500a-3p	4980	6001			
hsa-miR-500a-5p	4981	6002			
hsa-miR-500b	4982	6003	血液(血漿)		
hsa-miR-5010-3p				異常な皮膚(乾癬)	
	4983	6004			
hsa-miR-5010-5p				異常な皮膚(乾癬)	
	4984	6005			
hsa-miR-5011-3p	4985	6006			
hsa-miR-5011-5p	4986	6007			
hsa-miR-501-3p	4987	6008			
hsa-miR-501-5p	4988	6009			
hsa-miR-502-3p				様々ながん(肝細胞癌, 卵巣癌, 乳癌)	
	4989	6010			
hsa-miR-502-5p				様々ながん(肝細胞癌, 卵巣癌, 乳癌)	
	4990	6011			
hsa-miR-503-3p	4991	6012	卵巣		
hsa-miR-503-5p	4992	6013	卵巣		
hsa-miR-504	4993	6014		神経膠芽腫	
hsa-miR-5047	4994	6015			
hsa-miR-505-3p	4995	6016		乳癌	
hsa-miR-505-5p	4996	6017		乳癌	
hsa-miR-506-3p	4997	6018		様々ながん	
hsa-miR-506-5p	4998	6019		様々ながん	
hsa-miR-507	4999	6020			
hsa-miR-508-3p	5000	6021		腎細胞癌	
hsa-miR-508-5p			内皮前駆細胞(EPC)		
	5001	6022			
hsa-miR-5087	5002	6023			
hsa-miR-5088	5003	6024			
hsa-miR-5089-3p	5004	6025			
hsa-miR-5089-5p	5005	6026			
hsa-miR-5090	5006	6027			
hsa-miR-5091	5007	6028			
hsa-miR-5092	5008	6029			
hsa-miR-5093	5009	6030			
hsa-miR-509-3-5p	5010	6031	精巣		
hsa-miR-509-3p				腎細胞癌, 脳疾患	
	5011	6032			
hsa-miR-5094	5012	6033			
hsa-miR-5095	5013	6034		子宮頸癌	
hsa-miR-509-5p	5014	6035		メタボリック症	

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 5 4】

				候群,脳疾患	
hsa-miR-5096	5015	6036		子宮頸癌	
hsa-miR-510	5016	6037	脳		
hsa-miR-5100	5017	6038	唾液腺で発見		
hsa-miR-511			樹状細胞および		
	5018	6039	マクロファージ		
hsa-miR-512-3p	5019	6040	胚幹細胞,胎盤		
hsa-miR-512-5p	5020	6041	胚幹細胞,胎盤,		
hsa-miR-513a-3p	5021	6042		肺癌	
hsa-miR-513a-5p	5022	6043	内皮細胞		
hsa-miR-513b	5023	6044		濾胞性リンパ腫	
hsa-miR-513c-3p	5024	6045			
hsa-miR-513c-5p	5025	6046			
hsa-miR-514a-3p	5026	6047			
hsa-miR-514a-5p	5027	6048			
hsa-miR-514b-3p	5028	6049		様々ながん細胞	
hsa-miR-514b-5p	5029	6050		様々ながん細胞	
hsa-miR-515-3p	5030	6051			
hsa-miR-515-5p	5031	6052	胎盤		
hsa-miR-516a-3p	5032	6053	前頭皮質		
hsa-miR-516a-5p	5033	6054	胎盤		
hsa-miR-516b-3p	5034	6055			
hsa-miR-516b-5p	5035	6056			
hsa-miR-517-5p	5036	6057	胎盤		
hsa-miR-517a-3p	5037	6058	胎盤		
hsa-miR-517b-3p	5038	6059	胎盤		
hsa-miR-517c-3p	5039	6060	胎盤		
hsa-miR-5186			リンパ性白血病		
	5040	6061	で発見		
hsa-miR-5187-3p			リンパ性白血病		
	5041	6062	で発見,皮膚(乾癬)		
hsa-miR-5187-5p			リンパ性白血病		
	5042	6063	で発見,皮膚(乾癬)		
hsa-miR-5188			リンパ性白血病		
	5043	6064	で発見		
hsa-miR-5189			リンパ性白血病		
	5044	6065	で発見		
hsa-miR-518a-3p	5045	6066		HCC	
hsa-miR-518a-5p	5046	6067		様々ながん細胞	
hsa-miR-518b	5047	6068	胎盤	HCC	細胞周期進行
hsa-miR-518c-3p	5048	6069	胎盤		
hsa-miR-518c-5p	5049	6070	胎盤		
hsa-miR-518d-3p	5050	6071			
hsa-miR-518d-5p	5051	6072			

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 5 5】

hsa-miR-518e-3p	5052	6073		HCC	細胞周期進行
hsa-miR-518e-5p	5053	6074		HCC	細胞周期進行
hsa-miR-518f-3p	5054	6075	胎盤		
hsa-miR-518f-5p	5055	6076	胎盤		
hsa-miR-5190			リンパ性白血病		
	5056	6077	で発見		
hsa-miR-5191			リンパ性白血病		
	5057	6078	で発見		
hsa-miR-5192			リンパ性白血病		
	5058	6079	で発見		
hsa-miR-5193			リンパ性白血病		
	5059	6080	で発見		
hsa-miR-5194			リンパ性白血病		
	5060	6081	で発見		
hsa-miR-5195-3p			リンパ性白血病		
	5061	6082	で発見		
hsa-miR-5195-5p			リンパ性白血病		
	5062	6083	で発見		
hsa-miR-5196-3p			リンパ性白血病		
	5063	6084	で発見		
hsa-miR-5196-5p			リンパ性白血病		
	5064	6085	で発見		
hsa-miR-5197-3p			リンパ性白血病		
	5065	6086	で発見		
hsa-miR-5197-5p			リンパ性白血病		
	5066	6087	で発見		
hsa-miR-519a-3p	5067	6088	胎盤	HCC	
hsa-miR-519a-5p	5068	6089	胎盤	HCC	
hsa-miR-519b-3p	5069	6090		乳癌	
hsa-miR-519b-5p	5070	6091		乳癌	
hsa-miR-519c-3p	5071	6092			
hsa-miR-519c-5p	5072	6093			
hsa-miR-519d	5073	6094	胎盤		
hsa-miR-519e-3p	5074	6095	胎盤		
hsa-miR-519e-5p	5075	6096	胎盤		
hsa-miR-520a-3p	5076	6097	胎盤		
hsa-miR-520a-5p	5077	6098	胎盤		
hsa-miR-520b	5078	6099		乳癌	
hsa-miR-520c-3p	5079	6100		胃癌, 乳腺腫瘍	
hsa-miR-520c-5p	5080	6101		乳腺腫瘍	
hsa-miR-520d-3p	5081	6102		様々ながん細胞	
hsa-miR-520d-5p	5082	6103		様々ながん細胞	
hsa-miR-520e	5083	6104		肝細胞腫	腫瘍抑制因子
hsa-miR-520f	5084	6105		乳癌	
hsa-miR-520g				HCC, 膀胱癌, 乳癌	
	5085	6106			

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 5 6】

hsa-miR-520h	5086	6107	胎盤特異性		
hsa-miR-521	5087	6108		前立腺癌	
hsa-miR-522-3p	5088	6109		HCC	
hsa-miR-522-5p	5089	6110		HCC	
hsa-miR-523-3p	5090	6111			
hsa-miR-523-5p	5091	6112			
hsa-miR-524-3p	5092	6113		大腸癌幹細胞	
hsa-miR-524-5p	5093	6114	胎盤特異性	神経膠腫	
hsa-miR-525-3p	5094	6115	胎盤特異性	HCC	
hsa-miR-525-5p	5095	6116	胎盤特異性		
hsa-miR-526a	5096	6117	胎盤特異性		
hsa-miR-526b-3p	5097	6118	胎盤特異性		
hsa-miR-526b-5p	5098	6119	胎盤特異性		
hsa-miR-527	5099	6120			
hsa-miR-532-3p	5100	6121		ALL	
hsa-miR-532-5p	5101	6122		ALL	
hsa-miR-539-3p	5102	6123			
hsa-miR-539-5p	5103	6124			
hsa-miR-541-3p	5104	6125			
hsa-miR-541-5p	5105	6126			
hsa-miR-542-3p	5106	6127	単球		
hsa-miR-542-5p				基底細胞癌, 神経芽細胞腫	
	5107	6128			
hsa-miR-543	5108	6129			
hsa-miR-544a	5109	6130		骨肉腫	
hsa-miR-544b	5110	6131		骨肉腫	
hsa-miR-545-3p	5111	6132			
hsa-miR-545-5p	5112	6133		直腸癌	
hsa-miR-548	5113	6134			
hsa-miR-548-3p	5114	6135			
hsa-miR-548-5p	5115	6136			
hsa-miR-548a			結腸直腸マイクロRNAオームで識別		
	5116	6137			
hsa-miR-548a-3p			結腸直腸マイクロRNAオームで識別		
	5117	6138			
hsa-miR-548a-5p			結腸直腸マイクロRNAオームで識別		
	5118	6139			
hsa-miR-548aa	5119	6140	頸部腫瘍で識別		
hsa-miR-548ab	5120	6141	B細胞で発見		
hsa-miR-548ac	5121	6142	B細胞で発見		
hsa-miR-548ad	5122	6143	B細胞で発見		
hsa-miR-548ae	5123	6144	B細胞で発見		
hsa-miR-548ag	5124	6145	B細胞で発見		
hsa-miR-548ah	5125	6146	B細胞で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 5 7】

3p					
hsa-miR-548ah-5p	5126	6147	B細胞で発見		
hsa-miR-548ai	5127	6148	B細胞で発見		
hsa-miR-548aj-3p	5128	6149	B細胞で発見		
hsa-miR-548aj-5p	5129	6150	B細胞で発見		
hsa-miR-548ak	5130	6151	B細胞で発見		
hsa-miR-548al	5131	6152	B細胞で発見		
hsa-miR-548am-3p	5132	6153	B細胞で発見		
hsa-miR-548am-5p	5133	6154	B細胞で発見		
hsa-miR-548an	5134	6155	B細胞で発見		
hsa-miR-548ao-3p	5135	6156			
hsa-miR-548ao-5p	5136	6157			
hsa-miR-548ap-3p	5137	6158			
hsa-miR-548ap-5p	5138	6159			
hsa-miR-548aq-3p	5139	6160			
hsa-miR-548aq-5p	5140	6161			
hsa-miR-548ar-3p	5141	6162			
hsa-miR-548ar-5p	5142	6163			
hsa-miR-548as-3p	5143	6164			
hsa-miR-548as-5p	5144	6165			
hsa-miR-548at-3p	5145	6166		前立腺癌	
hsa-miR-548at-5p	5146	6167		前立腺癌	
hsa-miR-548au-3p	5147	6168			
hsa-miR-548au-5p	5148	6169			
hsa-miR-548av-3p	5149	6170			
hsa-miR-548av-5p	5150	6171			
hsa-miR-548aw	5151	6172		前立腺癌	
hsa-miR-548ay-3p	5152	6173	異常な皮膚(乾癬)で発見		
hsa-miR-548ay-5p	5153	6174	異常な皮膚(乾癬)で発見		
hsa-miR-548az-3p	5154	6175	異常な皮膚(乾癬)で発見		
hsa-miR-548az-5p	5155	6176	異常な皮膚(乾癬)で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 5 8】

hsa-miR-548b-3p	5156	6177	結腸直腸マイクロRNAオームで識別		
hsa-miR-548b-5p	5157	6178	免疫細胞,前頭皮質		
hsa-miR-548c-3p	5158	6179	結腸直腸マイクロRNAオームで識別		
hsa-miR-548c-5p	5159	6180	免疫細胞,前頭皮質		
hsa-miR-548d-3p	5160	6181	結腸直腸マイクロRNAオームで識別		
hsa-miR-548d-5p	5161	6182	結腸直腸マイクロRNAオームで識別		
hsa-miR-548e	5162	6183	胚幹細胞		
hsa-miR-548f	5163	6184	胚幹細胞		
hsa-miR-548g-3p	5164	6185	胚幹細胞		
hsa-miR-548g-5p	5165	6186	胚幹細胞		
hsa-miR-548h-3p	5166	6187	胚幹細胞		
hsa-miR-548h-5p	5167	6188	胚幹細胞		
hsa-miR-548i	5168	6189	胚幹細胞,免疫細胞		
hsa-miR-548j	5169	6190	免疫細胞		
hsa-miR-548k	5170	6191	胚幹細胞		
hsa-miR-548l	5171	6192	胚幹細胞		
hsa-miR-548m	5172	6193	胚幹細胞		
hsa-miR-548n	5173	6194	胚幹細胞,免疫細胞		
hsa-miR-548o-3p	5174	6195	胚幹細胞		
hsa-miR-548o-5p	5175	6196	胚幹細胞		
hsa-miR-548p	5176	6197	胚幹細胞		
hsa-miR-548q	5177	6198		卵巣癌細胞	
hsa-miR-548s	5178	6199	黒色腫マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-548t-3p	5179	6200	黒色腫マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-548t-5p	5180	6201	黒色腫マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-548u	5181	6202	黒色腫マイクロRNAオームで発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 5 9】

hsa-miR-548w			黒色腫マイクロRNAオームで発見		
	5182	6203			
hsa-miR-548y	5183	6204			
hsa-miR-548z	5184	6205	頸部腫瘍で発見		
hsa-miR-549a			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5185	6206			
hsa-miR-550a-3-5p	5186	6207		肝細胞癌	
hsa-miR-550a-3p	5187	6208		肝細胞癌	
hsa-miR-550a-5p	5188	6209		肝細胞癌	
hsa-miR-550b-2-5p	5189	6210	頸部腫瘍で発見		
hsa-miR-550b-3p	5190	6211	頸部腫瘍で発見		
hsa-miR-551a	5191	6212		胃癌	
hsa-miR-551b-3p	5192	6213	肝細胞		
hsa-miR-551b-5p	5193	6214	肝細胞		
hsa-miR-552			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5194	6215			
hsa-miR-553			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5195	6216			
hsa-miR-554			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5196	6217			
hsa-miR-555			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5197	6218			
hsa-miR-556-3p			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5198	6219			
hsa-miR-556-5p			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5199	6220			
hsa-miR-557	5200	6221	肝臓(肝細胞)		
hsa-miR-5571-3p	5201	6222	唾液腺で発見		
hsa-miR-5571-5p	5202	6223	唾液腺で発見		
hsa-miR-5572	5203	6224	唾液腺で発見		
hsa-miR-5579-3p	5204	6225			
hsa-miR-5579-5p	5205	6226			
hsa-miR-558	5206	6227		神経芽細胞腫	
hsa-miR-5580-3p	5207	6228			
hsa-miR-5580-5p	5208	6229			
hsa-miR-5581-3p	5209	6230			
hsa-miR-5581-5p	5210	6231			

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 6 0】

hsa-miR-5582-3p	5211	6232			
hsa-miR-5582-5p	5212	6233			
hsa-miR-5583-3p	5213	6234			
hsa-miR-5583-5p	5214	6235			
hsa-miR-5584-3p	5215	6236			
hsa-miR-5584-5p	5216	6237			
hsa-miR-5585-3p	5217	6238			
hsa-miR-5585-5p	5218	6239			
hsa-miR-5586-3p	5219	6240			
hsa-miR-5586-5p	5220	6241			
hsa-miR-5587-3p	5221	6242			
hsa-miR-5587-5p	5222	6243			
hsa-miR-5588-3p	5223	6244			
hsa-miR-5588-5p	5224	6245			
hsa-miR-5589-3p	5225	6246			
hsa-miR-5589-5p	5226	6247			
hsa-miR-559	5227	6248			
hsa-miR-5590-3p	5228	6249			
hsa-miR-5590-5p	5229	6250			
hsa-miR-5591-3p	5230	6251			
hsa-miR-5591-5p	5231	6252			
hsa-miR-561-3p	5232	6253		多発性骨髄腫	
hsa-miR-561-5p	5233	6254		多発性骨髄腫	
hsa-miR-562	5234	6255			
hsa-miR-563			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5235	6256			
hsa-miR-564				慢性骨髄性白血病	
	5236	6257			
hsa-miR-566				MALTリンパ腫/リンパ球	
	5237	6258			
hsa-miR-567	5238	6259		結腸直腸癌	
hsa-miR-568			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5239	6260			
hsa-miR-5680				転移性前立腺癌に関連	
	5240	6261			
hsa-miR-5681a				転移性前立腺癌に関連	
	5241	6262			
hsa-miR-5681b				転移性前立腺癌に関連	
	5242	6263			
hsa-miR-5682				転移性前立腺癌に関連	
	5243	6264			
hsa-miR-5683				転移性前立腺癌に関連	
	5244	6265			
hsa-miR-5684				転移性前立腺癌に関連	
	5245	6266			

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 6 1】

hsa-miR-5685	5246	6267	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5686	5247	6268	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5687	5248	6269	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5688	5249	6270	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5689	5250	6271	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-569	5251	6272	
hsa-miR-5690	5252	6273	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5691	5253	6274	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5692a	5254	6275	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5692b	5255	6276	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5692c	5256	6277	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5693	5257	6278	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5694	5258	6279	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5695	5259	6280	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5696	5260	6281	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5697	5261	6282	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5698	5262	6283	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5699	5263	6284	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5700	5264	6285	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5701	5265	6286	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5702	5266	6287	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-5703	5267	6288	転移性前立腺癌 に関連
hsa-miR-570-3p	5268	6289	濾胞性リンパ腫
hsa-miR-5704	5269	6290	転移性前立腺癌 に関連

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 6 2】

hsa-miR-5705				転移性前立腺癌 に関連	
	5270	6291			
hsa-miR-570-5p	5271	6292		濾胞性リンパ腫	
hsa-miR-5706				転移性前立腺癌 に関連	
	5272	6293			
hsa-miR-5707				転移性前立腺癌 に関連	
	5273	6294			
hsa-miR-5708				転移性前立腺癌 に関連	
	5274	6295			
hsa-miR-571	5275	6296	前頭皮質		
hsa-miR-572			循環マイクロ RNA(血漿中)	基底細胞癌	
	5276	6297			
hsa-miR-573			結腸直腸マイク ロRNAオームで 発見		
	5277	6298			
hsa-miR-5739	5278	6299	内皮細胞		
hsa-miR-574-3p	5279	6300	血液(骨髄系細胞)	濾胞性リンパ腫	
hsa-miR-574-5p	5280	6301	精液		
hsa-miR-575	5281	6302		胃癌	
hsa-miR-576-3p			結腸直腸マイク ロRNAオームで 発見		
	5282	6303			
hsa-miR-576-5p	5283	6304	軟骨/軟骨細胞		
hsa-miR-577			結腸直腸マイク ロRNAオームで 発見		
	5284	6305			
hsa-miR-578			結腸直腸マイク ロRNAオームで 発見		
	5285	6306			
hsa-miR-5787	5286	6307	fibroblast		
hsa-miR-579	5287	6308			
hsa-miR-580	5288	6309		乳癌	
hsa-miR-581	5289	6310	肝臓(肝細胞)		
hsa-miR-582-3p	5290	6311	軟骨/軟骨細胞	膀胱癌	
hsa-miR-582-5p	5291	6312		膀胱癌	
hsa-miR-583	5292	6313		直腸癌細胞	
hsa-miR-584-3p				腫瘍細胞(濾胞 性リンパ腫,直 腸癌細胞)	
	5293	6314			
hsa-miR-584-5p				腫瘍細胞(濾胞 性リンパ腫,直 腸癌細胞)	
	5294	6315			
hsa-miR-585	5295	6316		口腔扁平細胞癌	
hsa-miR-586			結腸直腸マイク ロRNAオームで 発見		
	5296	6317			

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 6 3】

hsa-miR-587	5297	6318	結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-588	5298	6319	結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-589-3p	5299	6320	中皮細胞		
hsa-miR-589-5p	5300	6321	中皮細胞		
hsa-miR-590-3p	5301	6322	心筋細胞		細胞周期進行
hsa-miR-590-5p	5302	6323	心筋細胞		細胞周期進行
hsa-miR-591	5303	6324		神経芽細胞腫	
hsa-miR-592	5304	6325		肝細胞癌	
hsa-miR-593-3p	5305	6326		食道癌	
hsa-miR-593-5p	5306	6327		食道癌	
hsa-miR-595	5307	6328		心不全	
hsa-miR-596	5308	6329		上衣腫,がん	
hsa-miR-597	5309	6330	結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-598	5310	6331	血液(リンパ球)		
hsa-miR-599	5311	6332		多発性硬化症	
hsa-miR-600	5312	6333	結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-601	5313	6334		様々ながん(結腸直腸癌,胃癌)	
hsa-miR-602	5314	6335	卵母細胞		
hsa-miR-603	5315	6336			
hsa-miR-604	5316	6337	結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-605	5317	6338	結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-606	5318	6339	結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-6068	5319	6340	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6069	5320	6341	内皮細胞で発見		
hsa-miR-607	5321	6342	結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-6070	5322	6343	結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-6071	5323	6344	内皮細胞で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 6 4】

hsa-miR-6072	5324	6345	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6073	5325	6346	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6074	5326	6347	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6075	5327	6348	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6076	5328	6349	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6077	5329	6350	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6078	5330	6351	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6079	5331	6352	内皮細胞で発見		
hsa-miR-608	5332	6353	様々ながん		
hsa-miR-6080	5333	6354	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6081	5334	6355	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6082	5335	6356	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6083	5336	6357	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6084	5337	6358	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6085	5338	6359	内皮細胞で発見		
hsa-miR-6086	5339	6360	胚幹細胞		
hsa-miR-6087	5340	6361	胚幹細胞		
hsa-miR-6088	5341	6362	胚幹細胞		
hsa-miR-6089	5342	6363	胚幹細胞		
hsa-miR-609			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5343	6364			
hsa-miR-6090	5344	6365	胚幹細胞		
hsa-miR-610	5345	6366	胃癌		
hsa-miR-611	5346	6367	腎細胞癌		
hsa-miR-612	5347	6368	AM白血病		
hsa-miR-6124	5348	6369			
hsa-miR-6125	5349	6370			
hsa-miR-6126	5350	6371			
hsa-miR-6127	5351	6372			
hsa-miR-6128	5352	6373			
hsa-miR-6129	5353	6374			
hsa-miR-613	5354	6375	脂質代謝		
hsa-miR-6130	5355	6376			
hsa-miR-6131	5356	6377			
hsa-miR-6132	5357	6378			
hsa-miR-6133	5358	6379			
hsa-miR-6134	5359	6380			
hsa-miR-614			循環micrRNA(血漿中)		
	5360	6381			
hsa-miR-615-3p	5361	6382			
hsa-miR-615-5p	5362	6383			
hsa-miR-616-3p	5363	6384	前立腺癌		
hsa-miR-6165					アポトーシス促進因子
	5364	6385			
hsa-miR-616-5p	5365	6386	前立腺癌		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 6 5】

hsa-miR-617	5366	6387			
hsa-miR-618	5367	6388			
hsa-miR-619			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5368	6389			
hsa-miR-620			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5369	6390			
hsa-miR-621	5370	6391			
hsa-miR-622	5371	6392			
hsa-miR-623	5372	6393			
hsa-miR-624-3p	5373	6394	軟骨細胞		
hsa-miR-624-5p	5374	6395	軟骨細胞		
hsa-miR-625-3p			肝臓(肝細胞),循環(血液)	様々ながん	
	5375	6396			
hsa-miR-625-5p			肝臓(肝細胞),循環(血液)	様々ながん	
	5376	6397			
hsa-miR-626			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5377	6398			
hsa-miR-627	5378	6399		結腸直腸癌	
hsa-miR-628-3p	5379	6400		神経芽細胞腫	
hsa-miR-628-5p	5380	6401		神経芽細胞腫	
hsa-miR-629-3p				B系統ALL,T細胞ループス,RCC/腎臓	
	5381	6402			
hsa-miR-629-5p				B系統ALL,T細胞ループス,RCC/腎臓	
	5382	6403			
hsa-miR-630	5383	6404	軟骨細胞	直腸癌	
hsa-miR-631			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5384	6405			
hsa-miR-632				骨髄異形成症候群	
	5385	6406			
hsa-miR-633	5386	6407		多発性硬化症	
hsa-miR-634	5387	6408	軟骨/軟骨細胞		
hsa-miR-635			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5388	6409			
hsa-miR-636				骨髄異形成症候群	
	5389	6410			
hsa-miR-637			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5390	6411			
hsa-miR-638	5391	6412		ループス腎炎,	

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 6 6】

				基底細胞癌	
hsa-miR-639			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5392	6413			
hsa-miR-640				慢性リンパ性白血病	
	5393	6414			
hsa-miR-641	5394	6415	軟骨/軟骨細胞		
hsa-miR-642a-3p	5395	6416	脂肪細胞		
hsa-miR-642a-5p			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5396	6417			
hsa-miR-642b-3p	5397	6418	頸部腫瘍で発見		
hsa-miR-642b-5p	5398	6419	頸部腫瘍で発見		
hsa-miR-643			結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
	5399	6420			
hsa-miR-644a	5400	6421			
hsa-miR-645	5401	6422		卵巣癌	
hsa-miR-646	5402	6423			
hsa-miR-647				前立腺癌および肺癌	
	5403	6424			
hsa-miR-648			循環micrRNA(血漿中)		
	5404	6425			
hsa-miR-649	5405	6426	血清		
hsa-miR-6499-3p			異常な皮膚(乾癬)で発見		
	5406	6427			
hsa-miR-6499-5p			異常な皮膚(乾癬)で発見		
	5407	6428			
hsa-miR-650	5408	6429		黒色腫	
hsa-miR-6500-3p			異常な皮膚(乾癬)で発見		
	5409	6430			
hsa-miR-6500-5p			異常な皮膚(乾癬)で発見		
	5410	6431			
hsa-miR-6501-3p			異常な皮膚(乾癬)で発見		
	5411	6432			
hsa-miR-6501-5p			異常な皮膚(乾癬)で発見		
	5412	6433			
hsa-miR-6502-3p			異常な皮膚(乾癬)で発見		
	5413	6434			
hsa-miR-6502-5p			異常な皮膚(乾癬)で発見		
	5414	6435			
hsa-miR-6503-3p			異常な皮膚(乾癬)で発見		
	5415	6436			
hsa-miR-6503-5p			異常な皮膚(乾癬)で発見		
	5416	6437			
hsa-miR-6504-3p	5417	6438	異常な皮膚(乾癬)		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 6 7】

			で発見		
hsa-miR-6504-5p	5418	6439	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6505-3p	5419	6440	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6505-5p	5420	6441	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6506-3p	5421	6442	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6506-5p	5422	6443	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6507-3p	5423	6444	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6507-5p	5424	6445	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6508-3p	5425	6446	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6508-5p	5426	6447	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6509-3p	5427	6448	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6509-5p	5428	6449	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-651	5429	6450	結腸直腸マイクロRNAオームで 発見	肺癌	
hsa-miR-6510-3p	5430	6451	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6510-5p	5431	6452	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6511a-3p	5432	6453	異常な皮膚(乾癬 および)精巣上体 で発見		
hsa-miR-6511a-5p	5433	6454	異常な皮膚(乾癬 および)精巣上体 で発見		
hsa-miR-6511b-3p	5434	6455	精巣上体で発見		
hsa-miR-6511b-5p	5435	6456	精巣上体で発見		
hsa-miR-6512-3p	5436	6457	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6512-5p	5437	6458	異常な皮膚(乾癬) で発見		
hsa-miR-6513-3p	5438	6459	異常な皮膚(乾癬) で発見		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 6 8】

hsa-miR-6513-5p	5439	6460	異常な皮膚(乾癬)で発見		
hsa-miR-6514-3p	5440	6461	異常な皮膚(乾癬)で発見		
hsa-miR-6514-5p	5441	6462	異常な皮膚(乾癬)で発見		
hsa-miR-6515-3p	5442	6463	異常な皮膚(乾癬および)精巣上体で発見		
hsa-miR-6515-5p	5443	6464	異常な皮膚(乾癬および)精巣上体で発見		
hsa-miR-652-3p	5444	6465		直腸癌細胞	
hsa-miR-652-5p	5445	6466		直腸癌細胞	
hsa-miR-653	5446	6467	結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-654-3p	5447	6468	結腸直腸マイクロRNAオームで発見		
hsa-miR-654-5p	5448	6469	骨髄	前立腺癌	
hsa-miR-655	5449	6470			
hsa-miR-656	5450	6471		様々ながん	
hsa-miR-657	5451	6472	乏突起膠細胞	糖尿病	
hsa-miR-658	5452	6473		胃癌	
hsa-miR-659-3p	5453	6474	筋原細胞		
hsa-miR-659-5p	5454	6475	筋原細胞		
hsa-miR-660-3p	5455	6476	筋原細胞		
hsa-miR-660-5p	5456	6477	筋原細胞		
hsa-miR-661	5457	6478		乳癌	
hsa-miR-662	5458	6479	内皮前駆細胞,卵母細胞		
hsa-miR-663a	5459	6480		濾胞性リンパ腫,ループス腎炎	
hsa-miR-663b	5460	6481		濾胞性リンパ腫,ループス腎炎	
hsa-miR-664a-3p	5461	6482	胚幹細胞		SnoRNAの成分
hsa-miR-664a-5p	5462	6483	胚幹細胞		SnoRNAの成分
hsa-miR-664b-3p	5463	6484	胚幹細胞		SnoRNAの成分
hsa-miR-664b-5p	5464	6485	胚幹細胞		SnoRNAの成分

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 6 9】

hsa-miR-665	5465	6486		乳癌	
hsa-miR-668	5466	6487	角化細胞		老化
hsa-miR-670	5467	6488			
hsa-miR-671-3p	5468	6489			
hsa-miR-6715a-3p	5469	6490	精巣上体で発見		
hsa-miR-6715b-3p	5470	6491	精巣上体で発見		
hsa-miR-6715b-5p	5471	6492	精巣上体で発見		
hsa-miR-671-5p	5472	6493		直腸癌,プロラクチノーマ	
hsa-miR-6716-3p	5473	6494	精巣上体で発見		
hsa-miR-6716-5p	5474	6495	精巣上体で発見		
hsa-miR-6717-5p	5475	6496	精巣上体で発見		
hsa-miR-6718-5p	5476	6497	精巣上体で発見		
hsa-miR-6719-3p	5477	6498	精巣上体で発見		
hsa-miR-6720-3p	5478	6499	精巣上体で発見		
hsa-miR-6721-5p	5479	6500	精巣上体で発見		
hsa-miR-6722-3p	5480	6501	精巣上体で発見		
hsa-miR-6722-5p	5481	6502	精巣上体で発見		
hsa-miR-6723-5p	5482	6503	精巣上体で発見		
hsa-miR-6724-5p	5483	6504	精巣上体で発見		
hsa-miR-675-3p	5484	6505		副腎皮質腫瘍	
hsa-miR-675-5p	5485	6506		副腎皮質腫瘍	
hsa-miR-676-3p	5486	6507	女性の生殖器官で発見		
hsa-miR-676-5p	5487	6508	女性の生殖器官で発見		
hsa-miR-708-3p	5488	6509		様々ながん(肺,膀胱癌,膵癌,ALL)	
hsa-miR-708-5p	5489	6510		様々ながん(肺,膀胱癌,膵癌,ALL)	
hsa-miR-711	5490	6511		皮膚T細胞リンパ腫	
hsa-miR-7-1-3p	5491	6512	グリア芽細胞,脳,膵臓		
hsa-miR-718	5492	6513	血液		
hsa-miR-7-2-3p	5493	6514	脳,膵臓		
hsa-miR-744-3p	5494	6515	心臓		
hsa-miR-744-5p	5495	6516	胚幹細胞,心臓		
hsa-miR-758-3p	5496	6517	コレステロール制御および脳		
hsa-miR-758-5p	5497	6518	コレステロール		

10

20

30

【表 0010-70】

			制御および脳		
hsa-miR-759	5498	6519			
hsa-miR-7-5p	5499	6520	脳		
hsa-miR-760				結腸直腸癌および乳癌	
	5500	6521			
hsa-miR-761	5501	6522			
hsa-miR-762	5502	6523	角膜上皮細胞		
hsa-miR-764	5503	6524	骨芽細胞		
hsa-miR-765	5504	6525		直腸癌	
hsa-miR-766-3p	5505	6526	胚幹細胞		
hsa-miR-766-5p	5506	6527	胚幹細胞		
hsa-miR-767-3p	5507	6528	/		
hsa-miR-767-5p	5508	6529	/		
hsa-miR-769-3p	5509	6530			
hsa-miR-769-5p	5510	6531			
hsa-miR-770-5p	5511	6532			
hsa-miR-802			脳, 上皮細胞, 肝細胞	ダウン症	
	5512	6533			
hsa-miR-873-3p	5513	6534			
hsa-miR-873-5p	5514	6535			
hsa-miR-874				子宮頸癌, 肺癌, 癌腫	
	5515	6536			
hsa-miR-875-3p	5516	6537			
hsa-miR-875-5p	5517	6538			
hsa-miR-876-3p	5518	6539			
hsa-miR-876-5p	5519	6540			
hsa-miR-877-3p	5520	6541			
hsa-miR-877-5p	5521	6542			
hsa-miR-885-3p	5522	6543	胚幹細胞		
hsa-miR-885-5p	5523	6544	胚幹細胞		
hsa-miR-887	5524	6545			
hsa-miR-888-3p	5525	6546			
hsa-miR-888-5p	5526	6547			
hsa-miR-889	5527	6548			
hsa-miR-890	5528	6549	精巣上体		
hsa-miR-891a	5529	6550	精巣上体	骨肉腫	
hsa-miR-891b	5530	6551	精巣上体		
hsa-miR-892a	5531	6552	精巣上体		
hsa-miR-892b	5532	6553	精巣上体		
hsa-miR-892c-3p	5533	6554	精巣上体で発見		
hsa-miR-892c-5p	5534	6555	精巣上体で発見		
hsa-miR-920	5535	6556	ヒト精巣		
hsa-miR-921			ヒト精巣	筋肉湿潤性膀胱癌	
	5536	6557			
hsa-miR-922			ヒト精巣, 二神経組織	多発性硬化症, アルコール性肝疾患	
	5537	6558			

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 7 1】

hsa-miR-924	5538	6559	ヒト精巣		
hsa-miR-92a-1-5p	5539	6560	内皮細胞		
hsa-miR-92a-2-5p	5540	6561	内皮細胞		
hsa-miR-92a-3p	5541	6562	内皮細胞,CNS		
hsa-miR-92b-3p	5542	6563	内皮細胞,心臓		
hsa-miR-92b-5p	5543	6564	内皮細胞,心臓		
hsa-miR-933	5544	6565	子宮頸癌で発見		
hsa-miR-93-3p	5545	6566	胚幹細胞	基底細胞癌	
hsa-miR-934	5546	6567	子宮頸癌で発見		
hsa-miR-935			血液単核細胞	エネルギー代謝/肥満,髄芽腫/神経幹細胞	
	5547	6568			
hsa-miR-93-5p	5548	6569	胚幹細胞		
hsa-miR-936	5549	6570	皮膚		
hsa-miR-937-3p	5550	6571		子宮頸癌	
hsa-miR-937-5p	5551	6572		子宮頸癌	
hsa-miR-938	5552	6573		様々ながん細胞	
hsa-miR-939-3p	5553	6574	肝細胞		
hsa-miR-939-5p	5554	6575	肝細胞		
hsa-miR-9-3p			脳	がんおよび脳疾患	
	5555	6576			
hsa-miR-940	5556	6577	子宮頸癌で識別		
hsa-miR-941	5557	6578	胚幹細胞		
hsa-miR-942	5558	6579		肺癌	
hsa-miR-943	5559	6580	子宮頸癌で識別		
hsa-miR-944				様々ながん(子宮頸癌,膀胱癌,結腸直腸癌)	
	5560	6581			
hsa-miR-95				様々ながん(膀胱癌,神経膠芽腫,結腸直腸癌など)	
	5561	6582			
hsa-miR-9-5p			脳	がんおよび脳疾患	
	5562	6583			
hsa-miR-96-3p			幹細胞	様々ながん(前立腺癌,リンパ腫,HCCなど)および炎症	
	5563	6584			
hsa-miR-96-5p			幹細胞	様々ながん(前立腺癌,リンパ腫,HCCなど)および炎症	
	5564	6585			
hsa-miR-98-3p	5565	6586		様々ながん細胞	アポトーシス
hsa-miR-98-5p	5566	6587		様々ながん細胞	アポトーシス
hsa-miR-99a-3p	5567	6588	造血細胞		
hsa-miR-99a-5p	5568	6589	造血細胞		

10

20

30

【表 0 0 1 0 - 7 2】

hsa-miR-99b-3p			造血細胞,胚幹細胞		
	5569	6590			
hsa-miR-99b-5p			造血細胞,胚幹細胞		
	5570	6591			

40

【0 3 3 2】

特定の種類の免疫細胞に濃縮されるマイクロRNAが表11に列挙される。さらに、マイクロアレーハイブリダイゼーションおよびマイクローム分析によって、当該技術分野で、

50

新規のマイクロRNAが免疫細胞で発見されている（Jima DD et al., Blood, 2010, 116:e118-e127; Vaz C et al., BMC Genomics, 2010, 11, 288, 各内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。表11では、「HCC」は肝細胞癌を意味し、「ALL」は急性リンパ性白血病を意味し、「CLL」は慢性（chronic）リンパ性白血病を意味する。

表11. 免疫細胞のマイクロRNA

【表0011-1】

マイクロRNA	mir配列番号	BS配列番号	マイクロRNAを有する組織/細胞	関連疾患	生物学的機能/標的
hsa-let-7a-2-3p	2508	3529	胚幹細胞, 肺, 骨髄系細胞	炎症, 様々ながん (肺癌, 子宮頸癌, 乳癌, 膀胱癌など)	腫瘍抑制因子, c-mycを標的
hsa-let-7a-3p	2509	3530	胚幹細胞, 肺, 骨髄系細胞	炎症, 様々ながん (肺癌, 子宮頸癌, 乳癌, 膀胱癌など)	腫瘍抑制因子, c-mycを標的
hsa-let-7a-5p	2510	3531	胚幹細胞, 肺, 骨髄系細胞	炎症, 様々ながん (肺癌, 子宮頸癌, 乳癌, 膀胱癌など)	腫瘍抑制因子, c-mycを標的
hsa-let-7c	2513	3534	樹状細胞	様々ながん (子宮頸癌, 膀胱癌, 肺, 食道癌など)	腫瘍抑制因子, アポトーシス (BCL-xLを標的)
hsa-let-7e-3p	2516	3537	免疫細胞	様々ながん細胞, 自己免疫, エンドトキシン耐性におけるTLRシグナル経路	腫瘍抑制因子
hsa-let-7e-5p	2517	3538	免疫細胞	様々ながん細胞に関連	腫瘍抑制因子
hsa-let-7f-1-3p	2518	3539	免疫細胞 (T細胞)	様々ながん細胞に関連	腫瘍抑制因子
hsa-let-7f-2-3p	2519	3540	免疫細胞 (T細胞)	様々ながん細胞に関連	腫瘍抑制因子
hsa-let-7f-5p	2520	3541	免疫細胞 (T細胞)	様々ながん細胞に関連	腫瘍抑制因子
hsa-let-7g-3p	2521	3542	造血細胞, 脂肪, 平滑筋細胞	様々ながん細胞 (肺, 乳癌など)	腫瘍抑制因子 (NFkB, LOX1を標的)
hsa-let-7g-5p	2522	3543	造血細胞, 脂肪, 平滑筋細胞	様々ながん細胞 (肺, 乳癌など)	腫瘍抑制因子 (NFkB, LOX1を標的)
hsa-let-7i-3p	2523	3544	免疫細胞	慢性リンパ性白血病	腫瘍抑制因子
hsa-let-7i-5p	2524	3545	免疫細胞	慢性リンパ性白血病	腫瘍抑制因子
hsa-miR-10a-3p	2530	3551	造血細胞	急性骨髄性白血病	癌遺伝子, 細胞成長
hsa-miR-10a-5p	2541	3562	造血細胞	急性骨髄性白血病	癌遺伝子, 細胞成長
hsa-miR-1184	2551	3572	造血細胞	口腔白板症 (OLK) での下方制御	F8遺伝子のイントロン22で推定

10

20

30

40

【表 0 0 1 1 - 2】

hsa-miR-125b-1-3p	2616	3637	造血細胞(単球), 脳(ニューロン)	様々ながん(ALL, 前立腺癌,HCCな ど);エンドトキシ ン耐性における TLRシグナル経路	癌遺伝子,細胞 分化
hsa-miR-125b-2-3p	2617	3638	造血細胞(単球), 脳(ニューロン)	様々ながん(ALL, 前立腺癌,HCCな ど);エンドトキシ ン耐性における TLRシグナル経路	癌遺伝子細胞 分化
hsa-miR-125b-5p	2618	3639	造血細胞,脳(ニ ューロン)	様々ながん(皮膚T 細胞リンパ腫,前立 腺癌,HCCなど);エ ンドトキシン耐性 におけるTLRシグ ナル経路	癌遺伝子細胞 分化
hsa-miR-1279	2652	3673	単球		
hsa-miR-130a-3p	2690	3711	肺,単球,血管内 皮細胞	様々ながん(基底細 胞癌,HCC,卵巣癌 など),薬剤耐性	血管新生促進
hsa-miR-130a-5p	2691	3712	肺,単球,血管内 皮細胞	様々ながん(基底細 胞癌,HCC,卵巣癌 など),薬剤耐性	血管新生促進
hsa-miR-132-3p	2697	3718	脳(ニューロン), 免疫細胞		
hsa-miR-132-5p	2699	3720	脳(ニューロン), 免疫細胞		
hsa-miR-142-3p	2720	3741	骨髄系細胞,血 球新生,APC細 胞		腫瘍抑制因子, 免疫応答
hsa-miR-142-5p	2721	3742	骨髄系細胞,血 球新生,APC細 胞		免疫応答
hsa-miR-143-5p	2723	3744	血管平滑筋,T細 胞	ウイルス感染後に 血清で増加	
hsa-miR-146a-3p	2730	3751	免疫細胞,血球 新生,軟骨,	CLLに関連,エンド トキシン耐性にお けるTLRシグナル 経路	
hsa-miR-146a-5p	2731	3752	免疫細胞,血球 新生,軟骨,	CLLに関連,エンド トキシン耐性にお けるTLRシグナル 経路	
hsa-miR-146b-3p	2732	3753	免疫細胞	がん(甲状腺癌)	免疫応答
hsa-miR-146b-5p	2733	3754	胚様体細胞	甲状腺癌,CLLに関 連	腫瘍湿潤,遊走
hsa-miR-147a	2736	3757	マクロファージ	炎症反応	

10

20

30

【表 0 0 1 1 - 3】

hsa-miR-147b	2737	3758	マクロファージ	炎症反応	
hsa-miR-148a-3p	2738	3759	造血細胞	CLLに関連,T系統ALL	
hsa-miR-148a-5p	2739	3760	造血細胞	CLLに関連,T系統ALL	
hsa-miR-150-3p	2744	3765	造血細胞(リンパ系)	循環血漿(急性骨髄性白血病)	
hsa-miR-150-5p	2745	3766	造血細胞(リンパ系)	循環血漿(急性骨髄性白血病)	
hsa-miR-151b	2748	3769	免疫細胞(B細胞)		
hsa-miR-155-3p	2756	3777	T/B細胞,単球,胸	CLLに関連,エンドトキシン耐性におけるTLRシグナル経路:B細胞リンパ腫(CLL)および他のがん(乳癌,肺,卵巣癌,子宮頸癌,結腸直腸癌,前立腺癌)で上方制御	
hsa-miR-155-5p	2757	3778	T/B細胞,単球,胸	CLLに関連,エンドトキシン耐性におけるTLRシグナル経路:B細胞リンパ腫(CLL)および他のがん(乳癌,肺,卵巣癌,子宮頸癌,結腸直腸癌,前立腺癌)で上方制御	
hsa-miR-15a-3p	2759	3780	血液,リンパ球,造血組織(脾臓)	慢性リンパ性白血病	
hsa-miR-15a-5p	2760	3781	血液,リンパ球,造血組織(脾臓)	慢性リンパ性白血病	
hsa-miR-15b-3p	2761	3782	血液,リンパ球,造血組織(脾臓)		細胞周期,増殖
hsa-miR-15b-5p	2762	3783	血液,リンパ球,造血組織(脾臓)		細胞周期,増殖
hsa-miR-16-1-3p	2763	3784	胚幹細胞,血液,造血組織(脾臓)	慢性リンパ性白血病	
hsa-miR-16-2-3p	2764	3785	血液,リンパ球,造血組織(脾臓)		
hsa-miR-16-5p	2765	3786	血液,リンパ球,造血組織		

10

20

30

【表 0 0 1 1 - 4】

hsa-miR-181a-3p	2769	3790	神経膠芽細胞, 骨髄系細胞, 胚幹細胞		
hsa-miR-181a-5p	2770	3791	神経膠芽細胞, 骨髄系細胞, 胚幹細胞		
hsa-miR-182-3p	2776	3797	免疫細胞	結腸直腸癌, 自己免疫	免疫応答
hsa-miR-182-5p	2778	3799	肺, 免疫細胞	自己免疫	免疫応答
hsa-miR-197-3p	2827	3848	血液(骨髄), 他の組織	様々ながん(甲状腺腫瘍, 白血病など)	
hsa-miR-197-5p	2828	3849	血液(骨髄), 他の組織	様々ながん(甲状腺腫瘍, 白血病など)	
hsa-miR-21-3p	2879	3099	神経膠芽細胞, 血液(骨髄系細胞), 肝臓, 血管内皮細胞	自己免疫, 心臓疾患, がん	
hsa-miR-214-3p	2880	3901	免疫細胞, 脾臓	様々ながん(黒色腫, 脾癌, 卵巣癌)	免疫応答
hsa-miR-214-5p	2881	3902	免疫細胞, 脾臓	様々ながん(黒色腫, 脾癌, 卵巣癌)	免疫応答
hsa-miR-21-5p	2883	3904	血液(骨髄系細胞), 肝臓, 内皮細胞	自己免疫, 心臓疾患, がん	
hsa-miR-221-3p	2894	3915	内皮細胞, 免疫細胞	乳癌, HMGA1誘導の甲状腺細胞形質転換にて上方制御, エンドトキシン耐性におけるTLRシグナル経路, T細胞ALLで上方制御	血管新生/脈管形成
hsa-miR-221-5p	2895	3916	内皮細胞, 免疫細胞	乳癌, HMGA1誘導の甲状腺細胞形質転換にて上方制御, エンドトキシン耐性におけるTLRシグナル経路, T細胞ALLで上方制御	血管新生/脈管形成
hsa-miR-223-3p	2898	3919	骨髄系細胞	CLLに関連	
hsa-miR-223-5p	2899	3920	骨髄系細胞	CLLに関連	
hsa-miR-23b-3p	2913	3934	血液, 骨髄系細胞	がん(腎臓癌, 神経膠芽腫, 前立腺癌など)および自己免疫	
hsa-miR-23b-5p	2914	3935	血液, 骨髄系細胞	がん(神経膠芽腫, 前立腺癌など)およ	

10

20

30

【表 0 0 1 1 - 5】

				び自己免疫	
hsa-miR-24-1-5p	2916	3937	肺, 骨髓系細胞		
hsa-miR-24-2-5p	2917	3938	肺, 骨髓系細胞		
hsa-miR-24-3p	2918	3939	肺, 骨髓系細胞		
hsa-miR-26a-1-3p	2927	3948	胚幹細胞, 血液(T細胞)	慢性リンパ球白血病および他のがん	細胞周期および分化
hsa-miR-26a-2-3p	2928	3949	血液(T細胞), 他の組織	慢性リンパ球白血病および他のがん	細胞周期および分化
hsa-miR-26a-5p	2929	3950	血液(T細胞), 他の組織	慢性リンパ球白血病および他のがん	細胞周期および分化
hsa-miR-26b-3p	2930	3951	造血細胞		
hsa-miR-26b-5p	2931	3952	造血細胞		
hsa-miR-27a-3p	2932	3953	骨髓系細胞	様々ながん細胞	
hsa-miR-27a-5p	2933	3954	骨髓系細胞	様々ながん細胞	
hsa-miR-27b-3p	2934	3955	骨髓系細胞, 血管内皮細胞	様々ながん細胞	血管新生促進
hsa-miR-28-3p	2936	3957	血液(免疫細胞)	B/T細胞リンパ腫	
hsa-miR-28-5p	2937	3958	血液(免疫細胞)	B/T細胞リンパ腫	
hsa-miR-2909	2939	3960	Tリンパ球		
hsa-miR-29a-3p	2948	3969	免疫系, 結腸直腸	様々ながん, 神経変性疾患	腫瘍抑制, 免疫調節(mir-29ファミリー)
hsa-miR-29a-5p	2949	3970	免疫系, 結腸直腸	様々ながん, 神経変性疾患	適応免疫
hsa-miR-29b-1-5p	2950	3971	免疫系	CLLに関連, 他のがん, 神経変性疾患	適応免疫
hsa-miR-29b-2-5p	2951	3972	免疫系	CLLに関連, 他のがん,	適応免疫
hsa-miR-29b-3p	2952	3973	免疫系	CLLに関連, 他のがん	適応免疫
hsa-miR-29c-3p	2953	3974	免疫系	CLLに関連, 他のがん	適応免疫
hsa-miR-29c-5p	2954	3975	免疫系	CLLに関連, 他のがん	適応免疫
hsa-miR-30e-3p	2984	4005	骨髓系細胞, 膠細胞		
hsa-miR-30e-5p	2985	4006	骨髓系細胞, 膠細胞		
hsa-miR-331-5p	3130	4151	リンパ球		
hsa-miR-339-3p	3137	4158	免疫細胞		

10

20

30

【表 0 0 1 1 - 6】

hsa-miR-339-5p	3138	4159	免疫細胞		
hsa-miR-345-3p	3147	4168	造血細胞	濾胞性リンパ腫(53)で増加,他のがん	
hsa-miR-345-5p	3148	4169	造血細胞	濾胞性リンパ腫(53)で増加	
hsa-miR-346	3149	4170	免疫細胞	がんおよび自己免疫	
hsa-miR-34a-3p	3150	4171	胸,骨髄系細胞,線毛上皮細胞	胃癌,CLL,その他	腫瘍抑制因子,p53誘導性
hsa-miR-34a-5p	3151	4172	胸,骨髄系細胞,線毛上皮細胞	胃癌,CLL,その他	腫瘍抑制因子,p53誘導性
hsa-miR-363-3p	3193	4214	腎臓幹細胞,血液細胞		
hsa-miR-363-5p	3194	4215	腎臓幹細胞,血液細胞		
hsa-miR-372	3277	4298	造血細胞,肺,胎盤(血液)		
hsa-miR-377-3p	3294	4315	造血細胞		
hsa-miR-377-5p	3295	4316	造血細胞		
hsa-miR-493-3p	4947	5968	骨髄系細胞,脾臓(脾臓)		
hsa-miR-493-5p	4948	5969	骨髄系細胞,脾臓(脾臓)		
hsa-miR-542-3p	5106	6127	単球		サバイビンを標的,増殖停止を導入
hsa-miR-548b-5p	5157	6178	免疫細胞 前頭皮質		
hsa-miR-548c-5p	5159	6180	免疫細胞 前頭皮質		
hsa-miR-548i	5168	6189	胚幹細胞(41), 免疫細胞		
hsa-miR-548j	5169	6190	免疫細胞		
hsa-miR-548n	5173	6194	胚幹細胞,免疫細胞		
hsa-miR-574-3p	5279	6300	血液(骨髄系細胞)	濾胞性リンパ腫(53)で増加	
hsa-miR-598	5310	6331	血液リンパ球(PBL)		
hsa-miR-935	5547	6568	ヒト子宮頸癌 血液 単核細胞で特定	エネルギー代謝/肥満,髄芽腫/神経幹細胞に関連	
hsa-miR-99a-3p	5567	6588	造血細胞		

10

20

30

【表 0 0 1 1 - 7】

40

hsa-miR-99a-5p	5568	6589	造血細胞,血漿(エキソソーム)		
hsa-miR-99b-3p	5569	6590	造血細胞,胚幹細胞,		
hsa-miR-99b-5p	5570	6591	造血細胞,胚幹細胞,血漿(エキソソーム)		

I I I . 修飾

本明細書におけるシグナルセンサーポリヌクレオチド（一次構築物またはmRNA分子等）において、「修飾」または必要に応じて「修飾された」という用語は、A、G、U、またはCリボヌクレオチドに対する修飾を指す。概して、本明細書において、これらの用語は、天然に存在する5'末端mRNAキャップ部分におけるリボヌクレオチド修飾を指すようには意図されていない。ポリペプチドにおいて、「修飾」という用語は、基準の組の20個のアミノ酸と比較した修飾を指す。

【0334】

この修飾は、様々なはつきりと異なる修飾であり得る。いくつかの実施形態において、コーディング領域、隣接領域、および／または末端領域は、1つ、2つ、または2つ以上の（任意に異なる）ヌクレオシドまたはヌクレオチド修飾を含有し得る。いくつかの実施形態において、細胞に導入された修飾シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、未修飾シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAと比較して、細胞における分解の減少を呈し得る。

【0335】

シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、糖、核酸塩基、またはヌクレオシド間結合（例えば、結合リン酸／ホスホジエステル結合／ホスホジエステル骨格への）等に対する任意の有用な修飾を含み得る。ピリミジン核酸塩基の1個以上の原子は、任意に置換されたアミノ、任意に置換されたチオール、任意に置換されたアルキル（例えば、メチルもしくはエチル）、またはハロ（例えば、クロロもしくはフルオロ）と置き換えられ得るか、またはこれらで置換され得る。ある特定の実施形態において、修飾（例えば、1つ以上の修飾）は、糖およびヌクレオシド間結合の各々において存在する。本発明に従う修飾は、デオキシリボ核酸（DNA）、トレオース核酸（TNA）、グリコール核酸（GNA）、ペプチド核酸（PNA）、ロックド核酸（LNA）、またはこれらのハイブリッド）に対するリボ核酸（RNA）の修飾であり得る。さらなる修飾が本明細書に記載される。

【0336】

本明細書に記載されるように、いくつかの実施形態では、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、mRNAが導入される細胞の自然免疫応答を実質的に誘導しない。誘導された自然免疫応答の特徴には、1）炎症誘発性サイトカインの発現の増加、2）細胞内PRR（RIG-I、MDA5等の活性化、および／または3）タンパク質翻訳の終結もしくは減少が含まれる。他の実施形態では、免疫応答が誘導される。

【0337】

ある特定の実施形態において、細胞に導入された修飾核酸分子を細胞内で分解することが望ましくあり得る。例えば、修飾核酸分子の分解は、タンパク質産生の正確なタイミングが所望される場合に好ましくあり得る。したがって、いくつかの実施形態において、本発明は、指向された様式で細胞内で作用され得る、分解ドメインを含有する修飾核酸分子を提供する。

【0338】

別の態様において、本開示は、シグナルセンサーポリヌクレオチドとの主溝相互作用（例えば、結合）パートナーの結合を攪乱し得るヌクレオシドまたはヌクレオチドを含むポリヌクレオチドを提供する（例えば、修飾ヌクレオチドは、未修飾ヌクレオチドと比較して、主溝相互作用パートナーに対して低下した結合親和性を有する場合）。

【0339】

シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、他の作用物質（例えば、RNAi誘導剤、RNAi剤、siRNA、shRNA、miRNA、アンチセンスRNA、リボザイム、触媒DNA、tRNA、三重らせん形成を誘導するRNA、アプタマー、ベクター等）を任意に含み得る。いくつかの実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、1個以上のメッセンジャー

R N A (m R N A) および 1 個以上の修飾ヌクレオシドまたはヌクレオチド (例えば、m m R N A 分子) を含み得る。これらのシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および m m R N A についての詳細は、以下に続く。

【0340】

シグナルセンサーポリヌクレオチドおよび一次構築物

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および m m R N A は、目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする結合ヌクレオシドの第 1 の領域、第 1 の領域の 5' 末端に位置する第 1 の隣接領域、および第 1 の領域の 3' 末端に位置する第 2 の隣接領域を含む。

【0341】

いくつかの実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、または m m R N A は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、2012 年 10 月 3 日 (M9) に出願された国際出願第 P C T / U S 1 2 / 0 5 8 5 1 9 号の方法および修飾に従って構築される。

【0342】

シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および m m R N A は、本明細書に記載の 5' および / または 3' 隣接領域を任意に含み得る。

【0343】

シグナルセンサー修飾 R N A (m m R N A) 分子

本発明は、修飾シグナルセンサー m R N A (m m R N A) 分子のビルディングブロック、例えば、修飾リボヌクレオシド、修飾リボヌクレオチドも含む。例えば、これらのビルディングブロックは、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、または m m R N A の調製に有用であり得る。そのようなビルディングブロックは、同時係属出願である、2012 年 10 月 3 日 (M9) に出願された国際出願第 P C T / U S 1 2 / 0 5 8 5 1 9 号で教示され、この内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0344】

核酸塩基における修飾

本開示は、修飾ヌクレオシドおよびヌクレオチドを提供する。本明細書に記載の「ヌクレオシド」は、有機塩基 (例えば、プリンもしくはピリミジン) またはその誘導体 (本明細書において「核酸塩基」とも称される) と組み合わせて糖分子 (例えば、ペントースもしくはリボース) またはその誘導体を含有する化合物と定義される。本明細書に記載される「ヌクレオチド」は、リン酸基を含むヌクレオシドと定義される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるヌクレオシドおよびヌクレオチドは通常、主溝面上で化学的に修飾される。非制限的な例となる修飾には、アミノ基、チオール基、アルキル基、ハロ基または本明細書に記載されるいずれかのものが含まれる。修飾ヌクレオチドは、(1 個以上の修飾または非天然ヌクレオシドを含めるために、例えば、化学的、酵素的、または組換え的に) 本明細書に記載の任意の有用な方法によって合成され得る。

【0345】

修飾ヌクレオシドおよびヌクレオチドは、修飾核酸塩基を含み得る。R N A に見られる核酸塩基の例には、アデニン、グアニン、シトシン、およびウラシルが挙げられるが、これらに限定されない。D N A に見られる核酸塩基の例には、アデニン、グアニン、シトシン、およびチミンが挙げられるが、これらに限定されない。これらの核酸塩基は、修飾または完全に置換されて、強化された特性を有するシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、または m m R N A 分子を提供し得る。例えば、本明細書に記載されるヌクレオシドおよびヌクレオチドは、化学的に修飾され得る。いくつかの実施例では、化学修飾にはアミノ基、チオール基、アルキル基またはハロ基が含まれ得る。

【0346】

ヌクレオシド間結合における修飾

シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、または m m R N A 分子に組み込まれ得る修飾ヌクレオチドは、ヌクレオシド間結合 (例えば、リン酸骨格) において修飾され

10

20

30

40

50

得る。本明細書において、ポリヌクレオチド骨格との関連で、「リン酸塩」および「ホスホジエステル」という表現は、同義に使用される。骨格リン酸基は、酸素原子のうちの1個以上を異なる置換基で置換することによって修飾され得る。さらに、修飾ヌクレオシドおよびヌクレオチドは、未修飾リン酸塩部分の別の本明細書に記載のヌクレオシド間結合との大規模な置換を含み得る。修飾リン酸基の例には、ホスホロチオエート、ホスホロセレナート、ボラノホスフェート、ボラノホスフェートエステル、水素ホスホネート、ホスホラミデート、ホスホロジアミデート、アルキルまたはアリールホスホネート、およびホスホトリエステルが挙げられるが、これらに限定されない。ホスホロジチオエートは、硫黄で置換された両方の非結合酸素を有する。リン酸リンカーは、結合酸素の窒素（架橋ホスホロアミデート）、硫黄（架橋ホスホロチオエート）、および炭素（架橋メチレンホスホネート）での置換によっても修飾され得る。

10

【0347】

α -チオ置換リン酸部分は、非天然ホスホロチオエート骨格結合を介してRNAおよびDNAポリマーに安定性を付与するように提供される。ホスホロチオエートDNAおよびRNAは、ヌクレアーゼ耐性の増加、続いて細胞環境においてより長い半減期を有する。ホスホロチオエート結合シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA分子は、細胞の自然免疫分子のより弱い結合／活性化によって自然免疫応答も低下させることが見込まれている。

【0348】

特定の実施形態において、修飾ヌクレオシドは、 α -チオヌクレオシド（例えば、5'-O-（1-チオホスフェート）-アデノシン、5'-O-（1-チオホスフェート）-シチジン（ α -チオシチジン）、5'-O-（1-チオホスフェート）-グアノシン、5'-O-（1-チオホスフェート）-ウリジン、または5'-O-（1-チオホスフェート）-シュードウリジン）を含む。

20

【0349】

リン原子を含有しないヌクレオシド間結合を含む本発明に従って用いられ得る他のヌクレオシド間結合は、以下の本明細書に記載される。

【0350】

修飾糖、核酸塩基、およびヌクレオシド間結合の組み合わせ

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、糖、核酸塩基、および／またはヌクレオシド間結合への修飾の組み合わせを含み得る。これらの組み合わせは、本明細書、または、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれる2012年10月3日（M9）に出願された国際出願第PCT/US12/058519号に記載のいずれか1つ以上の修飾を含み得る。

30

【0351】

シグナルセンサー一次構築物およびmmRNA分子の合成

本発明に従って用いるシグナルセンサーポリペプチド、一次構築物、およびmmRNA分子は、本明細書に記載の任意の有用な技法に従って調製され得る。本明細書に開示のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNA分子の合成において用いられる修飾ヌクレオシドおよびヌクレオチドは、以下の一般的な方法および手順を用いて容易に入手可能な出発物質から調製され得る。典型的なプロセス条件または好ましいプロセス条件（例えば、反応温度、時間、反応物質のモル比、溶媒、圧力等）が提供される場合、当業者であれば、さらなるプロセス条件を最適化および開発することができるであろう。最適な反応条件は、用いる特定の反応物または溶媒によって異なり得るが、そのような条件は、日常的な最適化手順を用いて当業者によって決定され得る。

40

【0352】

本明細書に記載のプロセスは、当技術分野で既知の任意の好適な方法に従って監視され得る。例えば、産物形成は、核磁気共鳴分光法（例えば、 ^1H もしくは ^{13}C ）、赤外線分光法、分光測光（例えば、紫外線可視）、もしくは質量分析等の分光学的手段、または高速液体クロマトグラフィー（HPLC）もしくは薄層クロマトグラフィー等のクロマトグ

50

ラフィーによって監視され得る。

【0353】

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNA分子の調製は、様々な化学基の保護および脱保護を伴い得る。保護および脱保護の必要性、ならびに適切な保護基の選択は、当業者によって容易に決定され得る。保護基の化学は、例えば、参照により全体が本明細書に組み込まれる、Greene, et al., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2d. Ed., Wiley & Sons, 1991において見出され得る。

【0354】

本明細書に記載のプロセスの反応は、有機合成分野の技術者によって容易に選択され得る好適な溶媒において行われ得る。好適な溶媒は、反応が行われる温度、すなわち、溶媒の凍結温度から溶媒の沸点の範囲であり得る温度で、出発物質（反応物）、中間体、または産物とは実質的に非反応性であり得る。所与の反応は、1つの溶媒または2つ以上の溶媒の混合物において行われ得る。特定の反応ステップに応じて、特定の反応ステップに好適な溶媒が選択され得る。

【0355】

修飾ヌクレオシドおよびヌクレオチド（例えば、mmRNA分子）のラセミ混合物の分解は、当技術分野で既知の多数の方法のうちのいずれかによって行われ得る。方法の例には、光学活性の塩形成有機酸である「キラル分解酸」を用いた分別再結晶が挙げられる。分別再結晶法に好適な分解酸には、例えば、酒石酸、ジアセチル酒石酸、ジベンゾイル酒石酸、マンデル酸、リンゴ酸、乳酸、または様々な光学活性カンファースルホン酸のDおよびL形態等の光学活性酸がある。ラセミ混合物の分解は、光学活性分解剤（例えば、ジニトロベンゾイルフェニルグリシン）を充填したカラム上での溶出によっても行われ得る。好適な溶出溶媒組成物は、当業者によって決定され得る。

【0356】

修飾ヌクレオシドおよびヌクレオチド（例えば、ビルディングブロック分子）は、各々が参照によりそれらの全体が組み込まれる、Ogata et al., *J. Org. Chem.* 74: 2585-2588 (2009)、Purmal et al., *Nucl. Acids Res.* 22 (1): 72-78, (1994)、Fukuhara et al., *Biochemistry*, 1 (4): 563-568 (1962)、およびXu et al., *Tetrahedron*, 48 (9): 1729-1740 (1992)に記載の合成方法に従って調製され得る。

【0357】

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、分子の全長に沿って均一に修飾されてもされなくてもよい。例えば、1種類以上またはすべての種類のヌクレオチド（例えば、プリンもしくはピリミジン、またはA、G、U、Cのうちのいずれか1つ以上もしくはすべて）は、本発明のポリヌクレオチドまたはその所与の既定の配列領域（例えば、図1に表される配列領域のうちの1つ以上）において均一に修飾されてもされなくてもよい。いくつかの実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド（またはその所与の配列領域）におけるすべてのヌクレオチドXが修飾され、ここでXは、ヌクレオチドA、G、U、Cのうちのいずれか1つ、または組み合わせA+G、A+U、A+C、G+U、G+C、U+C、A+G+U、A+G+C、G+U、もしくはA+G+Cのうちのいずれか1つであり得る。

【0358】

異なる糖修飾、ヌクレオチド修飾、および／またはヌクレオシド間結合（例えば、骨格構造）は、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの様々な位置で存在し得る。当業者であれば、ヌクレオチド類似体または他の修飾（複数可）が、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの機能が実質的に低下するように、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの任意の位置（複数可）に位置し得ることを認識する。修飾は、5'または3'末端修飾でも

あり得る。シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、約1%～約100%の修飾ヌクレオチド（全ヌクレオチド含量または1種類以上のヌクレオチド、すなわち、A、G、U、もしくはCのうちのいずれか1つ以上のいずれかと関連したもの）または任意の中間の割合（例えば、1%～20%、1%～25%、1%～50%、1%～60%、1%～70%、1%～80%、1%～90%、1%～95%、10%～20%、10%～25%、10%～50%、10%～60%、10%～70%、10%～80%、10%～90%、10%～95%、10%～100%、20%～25%、20%～50%、20%～60%、20%～70%、20%～80%、20%～90%、20%～95%、20%～100%、50%～60%、50%～70%、50%～80%、50%～90%、50%～95%、50%～100%、70%～80%、70%～90%、70%～95%、70%～100%、80%～90%、80%～95%、80%～100%、90%～95%、90%～100%、および95%～100%）を含有し得る。

10

【0359】

いくつかの実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、修飾ピリミジン（例えば、修飾ウラシル／ウリジン／Uまたは修飾シトシン／シチジン／C）を含む。いくつかの実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA分子中のウラシルまたはウリジン（概して、U）は、約1%～約100%の修飾ウラシルまたは修飾ウリジン（例えば、1%～20%、1%～25%、1%～50%、1%～60%、1%～70%、1%～80%、1%～90%、1%～95%、10%～20%、10%～25%、10%～50%、10%～60%、10%～70%、10%～80%、10%～90%、10%～95%、10%～100%、20%～25%、20%～50%、20%～60%、20%～70%、20%～80%、20%～90%、20%～95%、20%～100%、50%～60%、50%～70%、50%～80%、50%～90%、50%～95%、50%～100%、70%～80%、70%～90%、70%～95%、70%～100%、80%～90%、80%～95%、80%～100%、90%～95%、90%～100%、および95%～100%の修飾ウラシルまたは修飾ウリジン）と置換され得る。修飾ウラシルまたはウリジンは、単一の固有の構造を有する化合物または異なる構造（例えば、本明細書に記載の2、3、4つ以上の固有の構造）を有する複数の化合物に置換され得る。いくつかの実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA分子中のシトシンまたはシチジン（概して、C）は、約1%～約100%の修飾シトシンまたは修飾シチジン（例えば、1%～20%、1%～25%、1%～50%、1%～60%、1%～70%、1%～80%、1%～90%、1%～95%、10%～20%、10%～25%、10%～50%、10%～60%、10%～70%、10%～80%、10%～90%、10%～95%、10%～100%、20%～25%、20%～50%、20%～60%、20%～70%、20%～80%、20%～90%、20%～95%、20%～100%、50%～60%、50%～70%、50%～80%、50%～90%、50%～95%、50%～100%、70%～80%、70%～90%、70%～95%、70%～100%、80%～90%、80%～95%、80%～100%、90%～95%、90%～100%、および95%～100%の修飾シトシンまたは修飾シチジン）と置換され得る。修飾シトシンまたはシチジンは、単一の固有の構造を有する化合物または異なる構造（例えば、本明細書に記載の2、3、4つ以上の固有の構造）を有する複数の化合物に置換され得る。

20

30

40

【0360】

ヌクレオチドの組み合わせ

修飾ヌクレオチドと修飾ヌクレオチドの組み合わせのさらなる例が2012年10月3日（M9）に出願された国際出願第PCT/US12/058519号で提供され、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれる。

【0361】

いくつかの実施形態において、シチジンの少なくとも25%は置換される（例えば、少

50

なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または約100%)。

【0362】

いくつかの実施形態において、ウラシルの少なくとも25%は置換される(例えば、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または約100%)。

10

【0363】

いくつかの実施形態において、シチジンの少なくとも25%は置換され、ウラシルの少なくとも25%は置換される(例えば、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または約100%)。

【0364】

IV. 薬学的組成物

製剤化、投与、送達、および投薬

20

本発明は、1つ以上の薬学的に許容される賦形剤と組み合わせたシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAの組成物および複合体を提供する。薬学的組成物は、任意に、1つ以上のさらなる活性物質、例えば、治療上および/または予防上活性物質を含んでもよい。医薬品の製剤および/または製造における一般の考慮事項は、例えば、参照により本明細書に組み込まれる、Remington: The Science and Practice of Pharmacy 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2005において見出され得る。

【0365】

いくつかの実施形態において、組成物は、ヒト、すなわちヒト患者または対象に投与される。本開示の目的のために、「活性成分」という表現は、一般に、本明細書に記載の送達対象のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAを指す。

30

【0366】

本明細書に提供される薬学的組成物の説明は、原則的に、ヒトへの投与に好適である薬学的組成物を対象とするが、そのような組成物は一般に、任意の他の動物への、例えば、非ヒト動物、例えば、非ヒト哺乳動物への投与に好適であることが当業者によって理解されるであろう。組成物を種々の動物への投与に好適であるようにするための、ヒトへの投与に好適な薬学的組成物の修飾は、よく理解されており、獣医薬理学の専門家は、たとえ用いるとしても単なる通常の実験法を用いて、そのような修飾を設計および/または実施することができる。薬学的組成物の投与が企図される対象には、ヒトおよび/もしくは他の霊長類；ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ネコ、イヌ、マウス、および/もしくはラット等の商業的に関連性のある哺乳動物を含む哺乳動物；ならびに/または家禽類、ニワトリ、アヒル、ガチョウ、および/もしくはシチメンチョウ等の商業的に適切な鳥類を含む鳥類が含まれるが、これらに限定されない。

40

【0367】

本明細書に記載の薬学的組成物の製剤は、薬理学の技術分野で既知であるか今後開発される、任意の方法によって調製されて得る。一般に、そのような調製方法は、活性成分を賦形剤および/または1つ以上の他の副成分と混合し、次いで、必要かつ/または望ましい場合、生成物を所望の単回または複数回用量単位へと分割、成形、および/またはパッケージ化するステップを含む。

【0368】

50

本発明に従う薬学的組成物は、バルクで、1つの単回単位用量として、および／または複数の単回単位用量として、調製され、パッケージ化され、かつ／または販売され得る。本明細書で使用されるとき、「単位用量」は、既定量の活性成分を含む、薬学的組成物の個別的な量である。活性成分の量は一般に、対象に投与されるであろう活性成分の投薬量、および／または例えば、そのような投薬量の2分の1もしくは3分の1等の、そのような投薬量の好都合な分率に等しい。

【0369】

本発明に従う薬学的組成物中の活性成分、薬学的に許容される賦形剤、および／または任意のさらなる成分の相対的な量は、治療される対象の素性、大きさ、および／または状態に応じて変化し、組成物が投与されるべき経路に応じてさらに変化するであろう。例として、組成物は、0.1%～100w/w%、例えば、0.5～50w/w%、1～30w/w%、5～80w/w%、少なくとも80w/w%の活性成分を含み得る。

【0370】

製剤化

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、：(1)安定性を増加させ、(2)細胞形質移入を増加させ、(3)(例えば、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAのデボー製剤からの)持続放出もしくは遅延放出を可能にし、(4)生体分布を変化させ(例えば、ポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの標的を特定の組織または細胞型に定める)、(5)コードされたタンパク質の翻訳をインビボで増加させ、かつ／または(6)コードされたタンパク質の放出プロファイルをインビボで変化させるために、1つ以上の賦形剤を用いて製剤化することができる。ありとあらゆる溶媒、分散媒体、希釈剤、または他の液体ビヒクル、分散もしくは懸濁助剤、界面活性剤、等張剤、増粘剤もしくは乳化剤、防腐剤等の伝統的な賦形剤に加えて、本発明の賦形剤は、制限なく、リポドイド、リボソーム、脂質ナノ粒子、ポリマー、リポプレックス、コア-シェルナノ粒子、ペプチド、タンパク質、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNA(例えば、対象への移植のために)で形質移入された細胞、ヒアルロニダーゼ、ナノ粒子模倣体、およびこれらの組み合わせを含むことができる。さらに、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを、自己組織化核酸ナノ粒子を用いて製剤化し得る。

【0371】

したがって、本発明の製剤は、1つ以上の賦形剤を含むことができ、各々は一緒にシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNAの安定性を増加させる、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNAによる細胞形質移入を増加させる、ポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNAによりコードされるタンパク質の発現を増加させる、および／またはシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNAによりコードされるタンパク質の放出プロファイルを変化させる量である。さらに、本発明の一次構築物およびmmRNAは、自己集合性核酸ナノ粒子を用いて製剤化されてもよい。

【0372】

本明細書に記載の薬学的組成物の製剤は、薬理学の技術分野で既知であるか今後開発される、任意の方法によって調製され得る。一般に、そのような調製方法は、活性成分を賦形剤および／または1つ以上の他の副成分と混合するステップを含む。

【0373】

本開示による薬学的組成物は、バルクで、1つの単回単位用量として、および／または複数の単回単位用量として、調製され、パッケージ化され、かつ／または販売されてもよい。本明細書で使用されるとき、「単位用量」は、既定量の活性成分を含む、薬学的組成物の個別的な量を指す。活性成分の量は一般に、対象に投与されるであろう活性成分の投薬量、および／または例えば、そのような投薬量の2分の1もしくは3分の1を含むが、これらに限定されない、そのような投薬量の好都合な分率に等しい。

【0374】

本開示による薬学的組成物中の活性成分、薬学的に許容される賦形剤、および／または任意のさらなる成分の相対的な量は、治療されている対象の素性、サイズ、および／または状態に応じて変化し、組成物が投与されるべき経路に応じてさらに変化するであろう。例えば、組成物は、0.1 w/w %～99 %の活性成分を含み得る。

【0375】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の製剤は、少なくとも1つのシグナルセンサーmmRNAを含有し得る。非限定的な例として、製剤は、1、2、3、4、または5つのシグナルセンサーmmRNAを含有してもよい。一実施形態において、製剤は、タンパク質といったカテゴリーから選択されるタンパク質をコードする修飾mRNAを含有し得る。一実施形態において、製剤は、少なくとも3つのシグナルセンサー修飾mRNAがコードする腫瘍学関連タンパク質を含有する。一実施形態において、製剤は、少なくとも5つのシグナルセンサー修飾mRNAがコードする腫瘍学関連タンパク質を含有する。

10

【0376】

薬学的製剤は、所望される特定の剤形に適している、本明細書で使用されるときにありとあらゆる溶媒、分散媒体、希釈剤、または他の液体ビヒクル、分散もしくは懸濁助剤、界面活性剤、等張剤、増粘剤もしくは乳化剤、防腐剤等を含むが、これらに限定されない、薬学的に許容される賦形剤をさらに含んでもよい。薬学的組成物を製剤化するための種々の賦形剤および組成物を調製するための技法は、当技術分野で知られている（参照により本明細書に組み込まれる、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, A. R. Genaro, Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006を参照のこと）。任意の従来の賦形剤媒体が任意の望ましくない生体影響を引き起こすか、またはさなければ薬学的組成物の任意の他の構成成分（複数可）と有害な状態で相互作用するといった、物質またはその誘導体と不適合性である場合を除いて、その使用が本開示の範囲内で企図され得る。

20

【0377】

いくつかの実施形態において、脂質ナノ粒子の粒径は、増加および／または減少し得る。粒径の変化は、炎症等であるが、これらに限定されない生体反応に対抗する一助となることが可能であり得るか、または哺乳動物に送達されるシグナルセンサー修飾mRNAの生体効果を増加させ得る。

30

【0378】

薬学的組成物の製造に使用される薬学的に許容される賦形剤には、不活性希釈剤、界面活性剤および／もしくは乳化剤、防腐剤、緩衝剤、滑沢剤、ならびに／または油が含まれるが、これらに限定されない。そのような賦形剤が任意に本発明の薬学的製剤に含まれてもよい。

【0379】

本発明の薬学的組成物は、化学補助剤であり得る共補助剤を少なくとも1つ含み得る。化学補助剤および化学補助剤を含む送達システムの非制限的な例が、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれる国際公開第WO2013134349号で説明されている。化学補助剤は、本明細書に記載される送達ビヒクルと結合もしくは非共有結合し得、または、本明細書に記載される送達ビヒクル内に被包され得る。

40

【0380】

リピドイド

リピドイドの合成が詳細に記載されており、これらの化合物を含有する製剤は、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの送達に特に適している（これらすべてが参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、Mahon et al., Bioconjug Chem. 2010 21:1448-1454、Schroeder et al., J Intern Med. 2010 267:9-21、Akin et al., Nat Biotechnol. 2008 26:561-569、Love et al., Proc Natl Acad Sci USA.

50

2010 107:1864-1869、Siegwart et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2011 108:12996-3001を参照のこと）。

【0381】

これらのリポドイドを用いて、齧歯類および非ヒト霊長類において2本鎖低分子干渉RNAが有効に送達されているが（これらすべて、それらの全体が本明細書に組み込まれる、Akin et al., Nat Biotechnol. 2008 26:561-569、Frank-Kamenetsky et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2008 105:11915-11920、Akin et al., Mol Ther. 2009 17:872-879、Love et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2010 107:1864-1869、Leuschner et al., Nat Biotechnol. 2011 29:1005-1010を参照のこと）、本開示は、1本鎖シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを送達することにおけるそれらの製剤化および使用を記載する。これらのリポドイドを含有する複合体、ミセル、リポソーム、または粒子が調製され得、したがって、局所および／または全身投与経路を介したリポドイド製剤の注入後に、コードされたタンパク質の産生によって判定するとき、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの有効な送達をもたらすことができる。シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAのリポドイド複合体は、静脈内、筋肉内、または皮下経路を含むが、これらに限定されない、種々の手段によって投与することができる。

【0382】

核酸のインビボ送達は、製剤組成、粒子PEG化の性質、負荷の程度、オリゴヌクレオチド対脂質比を含むが、これらに限定されない多くのパラメータ、および粒径といった生物物理学的パラメータによって影響を受け得る（参照により全体が本明細書に組み込まれる、Akin et al., Mol Ther. 2009 17:872-879）。例として、ポリ（エチレングリコール）（PEG）脂質のアンカー鎖長のわずかな変化が、インビボ有効性に対する大きな効果をもたらし得る。ペンタ[3-（1-ラウリルアミノプロピオニル）]ートリエチレントトラミン塩酸塩（TETA-5LAP（98N12-5としても知られる）、Murugai et al., Analytical Biochemistry, 401:61（2010）を参照のこと）、C12-200（誘導体および変異形を含む）、およびMD1を含むが、これらに限定されない、異なるリポドイドを有する製剤がインビボ活性について試験され得る。

【0383】

本明細書において「98N12-5」と称されるリポドイドは、参照によりその全体が組み込まれる、Akin et al., Mol Ther. 2009 17:872-879によって開示されている。

【0384】

本明細書において「C12-200」と称されるリポドイドは、両方ともに参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、Love et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2010 107:1864-1869およびLiu and Huang, Molecular Therapy. 2010 669-670によって開示されている。リポドイド製剤は、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAに加えて、3つもしくは4つのいずれかまたはそれよりも多い構成成分を含む粒子を含むことができる。例として、ある特定のリポドイドを有する製剤は、98N12-5を含むが、これらに限定されず、42%リポドイド、48%コレステロール、および10%PEG（C14アルキル鎖長）を含有してもよい。別の例として、ある特定のリポドイドを有する製剤は、C12-200を含むが、これらに限定されず、50%リポドイド、10%ジステアロイルホスファチジル（distearylphosphatidyl）コリン、38.5%コレステロール、および1.5%PEG-DMGを

含有してもよい。

【0385】

リピドイドは、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAによる細胞形質移入を増加させ、かつ／またはコードされた腫瘍学関連タンパク質の翻訳を増加させることが可能であり得るため、異なるリピドイドの組み合わせを用いて、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの指示によるタンパク質産生の有効性を改善し得る（参照により全体が本明細書に組み込まれる、Whitehead et al., Mol. Ther. 2011, 19:1688-1694を参照のこと）。

【0386】

いくつかの実施形態では、脂質ナノ粒子の粒径は増大および／または低下し得る。粒径の変化は、限定はしないが炎症といった生物学的反応に抵抗する手助けができ得、または、対象に送達されるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAの生物学的効果を増大し得る。

【0387】

リポソーム、リポプレックス、および脂質ナノ粒子

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、1つ以上のリポソーム、リポプレックス、または脂質ナノ粒子を用いて製剤化することができる。一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの薬学的組成物は、リポソームを含む。リポソームは、主に脂質二重層から構成され得、栄養素および薬学的製剤の投与のための送達ビヒクルとして使用され得る、人工的に調製された小胞である。リポソームは、直径数百ナノメートルであり得、かつ狭い水性の区画によって分離される一連の同心状二重層を含有し得る多層小胞（MLV）、直径50nmよりも小さい場合がある小さい単細胞小胞（SUV）、および直径50～500nmであり得る大きい単層小胞（LUV）等であるが、これらに限定されない、異なるサイズのものであり得る。リポソーム設計は、不健康な組織へのリポソームの結合を改善するため、またはエンドサイトーシス等であるが、これらに限定されない事象を活性化するための、オプソニンまたはリガンドを含むが、これらに限定されない。リポソームは、薬学的製剤の送達を改善するために低pHまたは高pHを含有してもよい。

【0388】

リポソームの形成は、封入される薬学的製剤およびリポソーム成分、脂質小胞が分散される媒体の性質、封入される物質の有効濃度およびその潜在的な毒性、小胞の適用および／または送達中に伴われる任意のさらなるプロセス、意図される適用のための小胞の最適化サイズ、多分散性、および貯蔵寿命、ならびに安全かつ効率的なリポソーム生成物のバッチ間の再現性および大規模産生の可能性等であるが、これらに限定されない、物理化学特性に依存し得る。

【0389】

一実施形態において、本明細書に記載の薬学的組成物は、制限なく、1, 2-ジオレイルオキシ-N, N-ジメチルアミノプロパン（DODMA）リポソーム、Marina Biotech（Bothell, WA）によるDiLa2リポソーム、1, 2-ジリノレイルオキシ（dilinoylexy）-3-ジメチルアミノプロパン（DLin-DMA）、2, 2-ジリノレイル-4-（2-ジメチルアミノエチル）-[1, 3]-ジオキソラン（DLin-KC2-DMA）、およびMC3（参照により全体が本明細書に組み込まれる、米国特許公開第20100324120号）から形成されるもの等のリポソーム、ならびにJanssen Biotech, Inc.（Horsham, PA）によるDOXIL（登録商標）等であるが、これらに限定されない小分子薬物を送達し得るリポソームを含んでもよい。

【0390】

一実施形態において、本明細書に記載の薬学的組成物は、制限なく、以前に記載されており、インビトロおよびインビボでのオリゴヌクレオチド送達に好適であることが示され

10

20

30

40

50

た、安定化プラスミド-脂質粒子 (SPLP) または安定化核酸脂質粒子 (SNALP) の合成から形成されるもの等のリボソームを含んでもよい (これらすべてが参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、Wheeler et al. Gene Therapy. 1999 6:271-281、Zhang et al. Gene Therapy. 1999 6:1438-1447、Jeffs et al. Pharm Res. 2005 22:362-372、Morrissey et al., Nat Biotechnol. 2005 2:1002-1007、Zimmermann et al., Nature. 2006 441:111-114、Heyes et al., J Contr Rel. 2005 107:276-287、Semple et al., Nature Biotech. 2010 28:172-176、JUDGE et al., J Clin Invest. 2009 119:661-673、deFougerolles Hum Gene Ther. 2008 19:125-132を参照のこと)。Wheelerらによる元の製造方法は、洗浄剤透析法 (detergent dialysis method) であり、それは後に Jeffsらによって改善され、自発的小胞形成法 (spontaneous vesicle formation method) と称される。リボソーム製剤は、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAに加えて、3~4つの脂質構成成分から構成される。例としてリボソームは、Jeffsらによって記載されるように、55%のコレステロール、20%のジステアロイルホスファチジル (distearyl phosphatidyl) コリン (DSPC)、10%のPEG-S-DSG、および15%の1, 2-ジオレイルオキシ-N, N-ジメチルアミノプロパン (DODMA) を含有することができるが、これらに限定されない。別の例として、ある特定のリボソーム製剤は、Heyesらによって記載されるように、48%のコレステロール、20%のDSPC、2%のPEG-c-DMA、および30%のカチオン性脂質を含有してもよいが、これらに限定されず、このカチオン性脂質は、1, 2-ジステアリルオキシ (distearloyl) -N, N-ジメチルアミノプロパン (DSDMA)、DODMA、DLin-DMA、または1, 2-ジリノレニルオキシ-3-ジメチルアミノプロパン (DLenDMA) であり得る。

【0391】

一実施形態において、薬学的組成物は、少なくとも1つの免疫原をコードし得るシグナルセンサーmmRNAを送達するために形成され得る、リボソームを含んでもよい。mmRNAは、リボソームによってカプセル封入されてもよく、かつ／またはそれは、水性コアに含有されてもよく、それが次いでリボソームによってカプセル封入されてもよい (参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、国際公開第WO2012031046号、同第WO2012031043号、同第WO201203091号、および同第WO2012006378号を参照のこと)。別の実施形態において、免疫原をコードし得るシグナルセンサーmmRNAは、カチオン性水中油型エマルジョン中で製剤化されてもよく、そのエマルジョン粒子は、シグナルセンサーmmRNAと相互作用して分子をエマルジョン粒子に固着させることができる油中子およびカチオン性脂質を含む (国際公開第WO2012006380号を参照のこと)。さらに別の実施形態において、脂質製剤は、形質移入を向上させ得る脂質である少なくともカチオン性脂質、および脂質部分に連結された親水性頭頂基を含有する少なくとも1つの脂質を含んでもよい (参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、国際公開第WO2011076807号および米国公開第20110200582号を参照のこと)。別の実施形態において、免疫原をコードするシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および／またはmmRNAは、官能化脂質二重層の間に架橋を有し得る脂質小胞中に製剤化されてもよい (参照により全体が本明細書に組み込まれる、米国公開第20120177724号を参照のこと)。

【0392】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および／またはmmRNAは、官能化脂質二重層の間に架橋を有し得る脂質小胞中に製剤化されてもよ

い。

【0393】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および／またはmmRNAは、脂質-ポリカチオン複合体中に製剤化されてもよい。脂質-ポリカチオン複合体の形成は、当技術分野で既知の方法によって、および／または参照により全体が本明細書に組み込まれる米国公開第20120178702号に記載されるように遂行されてもよい。非限定的な例として、ポリカチオンには、ポリリジン、ポリオルニチン、および／またはポリアルギニンといったカチオン性ペプチドまたはポリペプチドが含まれてもよい。別の実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および／またはmmRNAは、コレステロールまたはジオレオイルホスファチジルエタノールアミン(DOPE)等であるが、これらに限定されない中性脂質をさらに含み得る、脂質-ポリカチオン複合体中に製剤化されてもよい。

10

【0394】

リボソーム製剤は、カチオン性脂質構成成分の選択、カチオン性脂質飽和の程度、PEG化の性質、すべての構成成分の比率、およびサイズ等の生物物理学的パラメータによって影響を受け得るが、これらに限定されない。Simplexら(Simplexら、Nature Biotech. 2010 28:172-176)による一例において、リボソーム製剤は、57.1%のカチオン性脂質、7.1%のジパルミトイルホスファチジルコリン、34.3%のコレステロール、および1.4%のPEG-c-DMAから構成された。別の例として、カチオン性脂質の組成を変化させることにより、siRNAを種々の抗原提示細胞により有効に送達することができた(参照により全体が本明細書に組み込まれる、Basha et al., Mol Ther. 2011 19:2186-2200)。

20

【0395】

いくつかの実施形態において、LNP製剤中のPEGの比率は、増加もしくは減少し得、かつ／またはPEG脂質の炭素鎖長がC14からC18に修飾されて、LNP製剤の薬物動態および／もしくは生体分布を変化させ得る。非限定的な例として、LNP製剤は、カチオン性脂質、DSPC、およびコレステロールと比較して、1~5%の脂質モル比のPEG-c-DMGを含有してもよい。別の実施形態において、PEG-c-DMGは、PEG-DSG(1,2-ジステアロイル-sn-グリセロール、メトキシポリエチレングリコール)またはPEG-DPG(1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロール、メトキシポリエチレングリコール)等であるが、これらに限定されないPEG脂質と置き換えられてもよい。カチオン性脂質は、DLin-MC3-DMA、DLin-DMA、C12-200、およびDLin-KC2-DMA等であるが、これらに限定されない、当技術分野で既知の任意の脂質から選択されてもよい。

30

【0396】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および／またはmmRNAのLNP製剤は3%の脂質モル比でPEG-c-DMGを含有してもよい。別の実施形態では、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物および／またはmmRNAのLNP製剤は、1.5%の脂質モル比でPEG-c-DMGを含有してもよい。

40

【0397】

一実施形態において、薬学的組成物シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および／またはmmRNAは、参照により本明細書に組み込まれる国際公開第WO2012099755号に記載のPEG化脂質のうちの少なくとも1つを含んでもよい。

【0398】

一実施形態において、薬学的組成物は、DiLa2リボソーム(Marina Biotech, Bothell, WA)、SMARTICLES(登録商標)(Marina Biotech, Bothell, WA)、中性DOPC(1,2-ジオレオイル-sn-グリセロール-3-ホスホコリン)系リボソーム(例えば、卵巣癌に対するsiRNA送

50

達 (Landen et al., Cancer Biology & Therapy 2006 5 (12) 1708-1713))、およびヒアルロナンコーティングリポソーム (Quiet Therapeutics, Israel) 等であるが、これらに限定されないリポソーム中に製剤化されてもよい。

【0399】

いくつかの実施形態では、リポソームは、がんおよび他の疾患の治療または細胞のコレステロール代謝を制御するために製剤化されたリポソームナノ構造であり得る。リポソームナノ構造はまた、がん細胞を殺すためにスカベンジャー受容体 B-1 型 (SR-B1) を含み得る。本明細書に記載されるシグナルセンサーポリヌクレオチドと一緒に用いられ得るリポソームナノ構造の非制限的な例が、国際公開第 WO 2013126776 号に記載されており、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれる。

10

【0400】

一実施形態において、本明細書に記載されるリポソームは、限定はしないがサイトカインといった免疫調節因子を少なくとも 1 つ含み得る。少なくとも 1 つの免疫調節因子を含むリポソームを用いる製剤および方法が、国際公開第 WO 2013129935 号および同第 WO 2013129936 号に記載されており、各内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。非制限的な例として、少なくとも 1 つの免疫調節因子を含むリポソームは、がんの治療で用いられ得る。免疫調節因子を含むリポソームは、本明細書に記載されるシグナルセンサーポリヌクレオチドを含み得る。非制限的な例として、免疫調節因子を含むリポソームは、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれる国際公開第 WO 2013129936 号に記載される、粒子性または小胞性免疫調節因子といった少なくとも 1 つの抗体を組み合わせて使用され得る。

20

【0401】

脂質ナノ粒子製剤は、カチオン性脂質を、急速排出 (rapidly eliminated) 脂質ナノ粒子 (reLNPs) として知られている生分解性カチオン性脂質と置き換えることによって改善されてもよい。DLinDMA、DLin-KC2-DMA、および DLin-MC3-DMA 等であるが、これらに限定されない、イオン化できるカチオン性脂質は、時間とともに血漿および組織中に蓄積することが示されてきており、潜在的な毒性の源であり得る。急速排出脂質の急速な代謝は、ラットにおいて 1 mg/kg 用量 ~ 10 mg/kg 用量の 1 桁分、脂質ナノ粒子の耐性および治療指数を改善することができる。酵素的に分解されるエステル結合の組み込みは、reLNPs 製剤の活性を依然として維持しながら、カチオン性構成成分の分解および代謝プロファイルを改善することができる。エステル結合は、脂質鎖の内部に位置することができるか、またはそれは、脂質鎖の末端において末端に位置してもよい。内部エステル結合は、脂質鎖内の任意の炭素を置き換えてもよい。

30

【0402】

一実施形態において、内部エステル結合は、飽和炭素のいずれの側に位置してもよい。

【0403】

一実施形態において、免疫応答が、ナノ化学種、ポリマー、および免疫原を含み得る脂質ナノ粒子を送達することによって、誘発され得る。(参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国公開第 20120189700 号および国際公開第 WO 2012099805 号)。ポリマーは、ナノ化学種をカプセル封入しても、ナノ化学種を部分的にカプセル封入してもよい。免疫原は、本明細書に記載の組換え腫瘍学関連タンパク質、シグナルセンサー修飾 RNA、および/または一次構築物であってもよい。一実施形態において、脂質ナノ粒子は、病原体に対するもの等であるが、これらに限定されないワクチンにおいて使用するために製剤化されてもよい。

40

【0404】

脂質ナノ粒子は、脂質ナノ粒子が粘膜関門を透過するように、粒子の表面特性を変化させるように操作されてもよい。粘液は、口腔 (例えば、周口膜および食道膜ならびに扁桃組織)、眼、胃腸 (例えば、胃、小腸、大腸、結腸、直腸)、鼻、呼吸器 (例えば、経鼻

50

、咽頭、気管、および気管支膜）、生殖器（例えば、膣内、子宮頸部、および尿道膜）上に位置する粘膜組織等であるが、これらに限定されない。より高い薬物カプセル封入効率および幅広い薬物の持続送達を提供する能力のために好ましい10～200nmよりも大きいナノ粒子、は、粘膜関門を通して急速に拡散するには大きすぎると考えられている。粘液は、継続的に分泌され、脱落し、破棄されるかまたは消化され、再生されるため、捕捉された粒子のほとんどは、数秒または数時間以内に粘膜（mucosa）組織から除去され得る。低分子量ポリエチレングリコール（PEG）で密にコーティングされた大きいポリマーナノ粒子（直径200nm～500nm）は、水中で拡散している同じ粒子よりもわずかに4～6倍低く、粘液を通して拡散した（参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、Lai et al., PNAS 2007 104 (5): 1482-487、Lai et al., Adv Drug Deliv Rev. 2009 61 (2): 158-171）。ナノ粒子の輸送は、蛍光退色後回復測定（FRAP）および高解像度多数粒子追跡（MPT）を含むが、これらに限定されない、透過速度および／または蛍光顕微鏡技法を用いて決定され得る。

10

【0405】

粘液を透過するように操作された脂質ナノ粒子は、ポリマー材料（すなわちポリマーコア）および／またはポリマー-ビタミン複合体および／またはトリブロックコポリマーを含んでもよい。ポリマー材料には、ポリアミン、ポリエーテル、ポリアミド、ポリエステル、ポリカルバメート、ポリ尿素、ポリカーボネート、ポリ（スチレン）、ポリイミド、ポリスルホン、ポリウレタン、ポリアセチレン、ポリエチレン、ポリエチレンイミン、ポリイソシアネート、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリアクリロニトリル、およびポリアリレートが含まれてもよいが、これらに限定されない。ポリマー材料は、生分解性および／または生体適合性であってもよい。具体的なポリマーの非限定的な例としては、ポリ（カプロラクトン）（PCL）、エチレン酢酸ビニルポリマー（EVA）、ポリ（乳酸）（PLA）、ポリ（L-乳酸）（PLLA）、ポリ（グリコール酸）（PGA）、ポリ（乳酸-α-グリコール酸）（PLGA）、ポリ（L-乳酸-α-グリコール酸）（PLPGA）、ポリ（D, L-ラクチド）（PDLA）、ポリ（L-ラクチド）（PLLA）、ポリ（D, L-ラクチド-α-カプロラクトン）、ポリ（D, L-ラクチド-α-カプロラクトン-α-グリコリド）、ポリ（D, L-ラクチド-α-PEO-α-D, L-ラクチド）、ポリ（D, L-ラクチド-α-PPO-α-D, L-ラクチド）、ポリアルキルシアノアクリレート（cyanoacrylate）、ポリウレタン、ポリ-L-リジン（PLL）、ヒドロキシプロピルメタクリレート（HPMA）、ポリエチレングリコール、ポリ-L-グルタミン酸、ポリ（ヒドロキシ酸）、ポリ無水物、ポリオルトエステル、ポリ（エステルアミド）、ポリアミド、ポリ（エステルエーテル）、ポリカーボネート、ポリエチレンおよびポリプロピレン等のポリアルキレン、ポリ（エチレングリコール）（PEG）、ポリアルキレンオキシド（PEO）等のポリアルキレングリコール、ポリ（エチレンテレフタレート）等のポリアルキレンテレフタレート、ポリビニルアルコール（PVA）、ポリビニルエーテル、ポリ（酢酸ビニル）等のポリビニルエステル、ポリ（塩化ビニル）（PVC）等のハロゲン化ポリビニル、ポリビニルピロリドン、ポリシロキサン、ポリスチレン（PS）、ポリウレタン、アルキルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース、セルロースエーテル、セルロースエステル、ニトロセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース等の誘導体化セルロース、ポリ（メチル（メタ）アクリレート）（PMMA）、ポリ（エチル（メタ）アクリレート）、ポリ（ブチル（メタ）アクリレート）、ポリ（イソブチル（メタ）アクリレート）、ポリ（ヘキシル（メタ）アクリレート）、ポリ（イソデシル（メタ）アクリレート）、ポリ（ラウリル（メタ）アクリレート）、ポリ（フェニル（メタ）アクリレート）、ポリ（メチルアクリレート）、ポリ（イソプロピルアクリレート）、ポリ（イソブチルアクリレート）、ポリ（オクタデシルアクリレート）等のアクリル酸のポリマー、ならびにそのコポリマーおよび混合物、ポリジオキサノンおよびそのコポリマー、ポリヒドロキシアルカノエート、ポリプロピレンフマル酸塩、ポリオキシメチレン、ポリオキサマー

20

30

40

50

、ポリ（オルト）エステル、ポリ（酪酸）、ポリ（吉草酸）、ポリ（ラクチド－c o－カプロラクトン）、およびトリメチレンカーボネート、ポリビニルピロリドンが挙げられる。脂質ナノ粒子は、ブロックコポリマー、および（ポリ（エチレングリコール）－（ポリ（プロピレンオキシド）－（ポリ（エチレングリコール）トリブロックコポリマー（参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国公開第20120121718号および米国公開20100003337号を参照のこと）等であるが、これらに限定されない、コポリマーでコーティングされるか、またはそれと会合されてもよい。コポリマーは、一般に安全と認められる（GRAS）ポリマーであってもよく、脂質ナノ粒子の形成は、新たな化学実体は何ら作り出されないような方式であってもよい。例えば、脂質ナノ粒子は、新たな化学実体を形成することなく、依然としてヒト粘液に急速に透過可能である、ポロキサマーコーティングPLGAナノ粒子を含んでもよい（参照により全体が本明細書に組み込まれる、Yang et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2011 50: 2597-2600）。

10

【0406】

ポリマー－ビタミン複合体のビタミンは、ビタミンEであってもよい。この複合体のビタミン部分は、ビタミンA、ビタミンE、他のビタミン、コレステロール、他の界面活性剤の疎水性部分または疎水性構成成分（例えば、ステロール鎖、脂肪酸、炭化水素鎖、およびアルキレンオキシド鎖）等であるが、これらに限定されない他の好適な構成成分で置換されてもよい。

20

【0407】

粘液を透過するように操作された脂質ナノ粒子には、表面変質剤が含まれ、例えば、シグナルセンサーmmRNA、アニオン性タンパク質（例えば、ウシ血清アルブミン）、界面活性剤（例えば、ジメチルジオクタデシル－アンモニウムブドミド等の、例えば、カチオン性界面活性剤）、糖または糖誘導体（例えば、シクロデキストリン）、核酸、ポリマー（例えば、ヘパリン、ポリエチレングリコール、およびポロキサマー）、粘液溶解剤（例えば、N－アセチルシステイン、餅草、プロメライ、パバイン、クレロデンドロン、アセチルシステイン、ブロムヘキシン、カルボシステイン、エブラジノン、メスナ、アンブロキソール、ソブレロール、ドミオドール、レトステイン、ステプロニン、チオプロニン、ゲルゾリン、サイモシン β 4ドルナーゼ α 、ネルテネキシン、エルドステイン）、およびrhDNaseを含む種々のDNaseであるが、これらに限定されない表面変質剤が含まれてもよい。表面変質剤は、粒子の表面に包埋されるもしくは絡ませられるか、または脂質ナノ粒子の表面上に（例えば、コーティング、吸着、共有結合、または他のプロセスによって）配置されてもよい。（参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国公開20100215580号および米国公開20080166414号を参照のこと）。

30

【0408】

粘液透過性脂質ナノ粒子は、本明細書に記載されるシグナルセンサーmmRNAを少なくとも1つ含み得る。シグナルセンサーmmRNAは脂質ナノ粒子に被包され得、および／または、粒子の表面上に配置され得る。シグナルセンサーmmRNAは、脂質ナノ粒子に共有結合し得る。粘液透過性脂質ナノ粒子の製剤は、複数のナノ粒子を含み得る。さらに、製剤は、粘液と相互作用し得る粒子を含み得、周囲の粘液の構造上および／または粘着性特性を改変し、粘液透過性脂質ナノ粒子の粘膜組織への送達を増大し得る粘膜付着を低下し得る。

40

【0409】

脂質ナノ粒子は、脂質ナノ粒子が粘膜関門を透過するように、粒子の表面特性を変化させるように操作されてもよい。粘液は、限定はしないが、口腔（例えば、周口膜および食道膜ならびに扁桃組織）、眼、胃腸（例えば、胃、小腸、大腸、結腸、直腸）、鼻、呼吸器（例えば、経鼻、咽頭、気管、および気管支膜）、生殖器（例えば、膣内、子宮頸部、および尿道膜）といった粘膜組織上に位置する。より高い薬物カプセル封入効率および幅広い薬物の持続送達を提供する能力のために好ましい10～200nmよりも大きいナノ

50

粒子、は、粘膜関門を通して急速に拡散するには大きすぎると考えられている。粘液は、継続的に分泌され、脱落し、破棄されるかまたは消化され、再生されるため、捕捉された粒子のほとんどは、数秒または数時間以内に粘膜 (m u c o s l a) 組織から除去され得る。低分子量ポリエチレングリコール (P E G) で密にコーティングされた大きいポリマーナノ粒子 (直径 2 0 0 n m ~ 5 0 0 n m) は、水中で拡散している同じ粒子よりもわずかに 4 ~ 6 倍低く、粘液を通して拡散した (参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、L a i e t a l . , P N A S 2 0 0 7 1 0 4 (5) : 1 4 8 2 - 4 8 7、L a i e t a l . , A d v D r u g D e l i v R e v . 2 0 0 9 6 1 (2) : 1 5 8 - 1 7 1)。ナノ粒子の輸送は、蛍光退色後回復測定 (F R A P) および高解像度多数粒子追跡 (M P T) を含むが、これらに限定されない、透過速度および／または蛍光顕微鏡技法を用いて決定され得る。

10

【0410】

粘液を透過するように操作された脂質ナノ粒子は、ポリマー材料 (すなわちポリマーコア) および／またはポリマー-ビタミン複合体および／またはトリブロックコポリマーを含んでもよい。ポリマー材料には、ポリアミン、ポリエーテル、ポリアミド、ポリエステル、ポリカルバメート、ポリ尿素、ポリカーボネート、ポリ (スチレン)、ポリイミド、ポリスルホン、ポリウレタン、ポリアセチレン、ポリエチレン、ポリエチレンイミン、ポリイソシアネート、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリアクリロニトリル、およびポリアリレートが含まれてもよいが、これらに限定されない。ポリマー材料は、生分解性および／または生体適合性であってもよい。具体的なポリマーの非限定的な例としては、ポリ (カプロラクトン) (P C L)、エチレン酢酸ビニルポリマー (E V A)、ポリ (乳酸) (P L A)、ポリ (L-乳酸) (P L L A)、ポリ (グリコール酸) (P G A)、ポリ (乳酸-c o-グリコール酸) (P L G A)、ポリ (L-乳酸-c o-グリコール酸) (P L L G A)、ポリ (D, L-ラクチド) (P D L A)、ポリ (L-ラクチド) (P L L A)、ポリ (D, L-ラクチド-c o-カプロラクトン)、ポリ (D, L-ラクチド-c o-カプロラクトン-c o-グリコリド)、ポリ (D, L-ラクチド-c o-P E O-c o-D, L-ラクチド)、ポリ (D, L-ラクチド-c o-P P O-c o-D, L-ラクチド)、ポリアルキルシアノアクリレート (c y a n o a c r a l a t e)、ポリウレタン、ポリ-L-リジン (P L L)、ヒドロキシプロピルメタクリレート (H P M A)、ポリエチレングリコール、ポリ-L-グルタミン酸、ポリ (ヒドロキシ酸)、ポリ無水物、ポリオルトエステル、ポリ (エステルアミド)、ポリアミド、ポリ (エステルエーテル)、ポリカーボネート、ポリエチレンおよびポリプロピレン等のポリアルキレン、ポリ (エチレングリコール) (P E G)、ポリアルキレンオキシド (P E O) 等のポリアルキレングリコール、ポリ (エチレンテレフタレート) 等のポリアルキレンテレフタレート、ポリビニルアルコール (P V A)、ポリビニルエーテル、ポリ (酢酸ビニル) 等のポリビニルエステル、ポリ (塩化ビニル) (P V C) 等のハロゲン化ポリビニル、ポリビニルピロリドン、ポリシロキサン、ポリスチレン (P S)、ポリウレタン、アルキルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース、セルロースエーテル、セルロースエステル、ニトロセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース等の誘導体化セルロース、ポリ (メチル (メタ) アクリレート) (P M M A)、ポリ (エチル (メタ) アクリレート)、ポリ (ブチル (メタ) アクリレート)、ポリ (イソブチル (メタ) アクリレート)、ポリ (ヘキシル (メタ) アクリレート)、ポリ (イソデシル (メタ) アクリレート)、ポリ (ラウリル (メタ) アクリレート)、ポリ (フェニル (メタ) アクリレート)、ポリ (メチルアクリレート)、ポリ (イソプロピルアクリレート)、ポリ (イソブチルアクリレート)、ポリ (オクタデシルアクリレート) 等のアクリル酸のポリマー、ならびにそのコポリマーおよび混合物、ポリジオキサノンおよびそのコポリマー、ポリヒドロキシアルカノエート、ポリプロピレンフマル酸塩、ポリオキシメチレン、ポロキサマー、ポリ (オルト) エステル、ポリ (酪酸)、ポリ (吉草酸)、ポリ (ラクチド-c o-カプロラクトン)、およびトリメチレンカーボネート、ポリビニルピロリドンが挙げられる。脂質ナノ粒子は、ブロックコポリマー、および (ポリ (エチレングリコール) - (ポリ

20

30

40

50

(プロピレンオキシド) - (ポリ(エチレングリコール)トリブロックコポリマー(参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国公開第20120121718号および米国公開20100003337号を参照のこと)等であるが、これらに限定されない、コポリマーでコーティングされるか、またはそれと会合されてもよい。

【0411】

ポリマー-ビタミン複合体のビタミンは、ビタミンEであってもよい。この複合体のビタミン部分は、ビタミンA、ビタミンE、他のビタミン、コレステロール、他の界面活性剤の疎水性部分または疎水性構成成分(例えば、ステロール鎖、脂肪酸、炭化水素鎖、およびアルキレンオキシド鎖)等であるが、これらに限定されない他の好適な構成成分で置換されてもよい。

10

【0412】

粘液中に透過するように操作された脂質ナノ粒子には、mmRNA、アニオン性タンパク質(例えば、ウシ血清アルブミン)、界面活性剤(例えば、ジメチルジオクタデシルアンモニウムブドミド等の、例えば、カチオン性界面活性剤)、糖または糖誘導体(例えば、シクロデキストリン)、核酸、ポリマー(例えば、ヘパリン、ポリエチレングリコール、およびポロキサマー)、粘液溶解剤(例えば、N-アセチルシステイン、餅草、ブロメライ、パパイン、クレロデンドロン、アセチルシステイン、ブロムヘキシン、カルボシステイン、エブラジノン、メスナ、アンブロキシソール、ソブレロール、ドミオドール、レトステイン、ステプロニン、チオプロニン、ゲルゾリン、サイモシンβ4ドルナーゼα、ネルテネキシン、エルドステイン)、およびrhDNaseを含む種々のDNase等であるが、これらに限定されない表面変質剤が含まれてもよい。表面変質剤は、粒子の表面に包埋されるもしくは絡ませられるか、または脂質ナノ粒子の表面上に(例えば、コーティング、吸着、共有結合、または他のプロセスによって)配置されてもよい。(参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国公開20100215580号および米国公開20080166414号を参照のこと)。

20

【0413】

粘液中に透過性脂質ナノ粒子は、本明細書に記載の少なくとも1つのシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを含んでもよい。シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAは、脂質ナノ粒子中にカプセル封入され、かつ/または粒子の表面上に配置されてもよい。シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAは、脂質ナノ粒子に共有結合されてもよい。粘液中に透過性脂質ナノ粒子の製剤は、複数のナノ粒子を含んでもよい。さらに、製剤は、粘液中に相互作用し、周囲の粘液中の構造特性および/または付着特性を、粘膜付着を減少させるように変質させ得、それにより粘液中に透過性脂質ナノ粒子の粘膜組織への送達を増加させ得る、粒子を含有してもよい。

30

【0414】

一実施形態において、ナノ粒子は、少なくとも1つの治療剤(例えば、本明細書に記載されるシグナルセンサーポリヌクレオチド)を含む、Mieszawskaら(Bioconjugate Chemistry, 2013, 24(9), pp 1429-1434; その内容が、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)が説明するような二重様式治療のためであり得る。脂質ナノ粒子に製剤化される治療剤または治療剤(複数)は、抗血管新生および細胞傷害剤であり得る(例えば、Mieszawska et al., Bioconjugate Chemistry, 2013, 24(9), pp 1429-1434が教示するポリマー-脂質ナノ粒子を参照; その内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。

40

【0415】

別の実施形態では、ナノ粒子は、参照によりその内容全体が本明細書に組み込まれる国際公開第WO2013100869号に記載されるナノ担体といったLyP-1ペプチドを含み得る。LyP-1ペプチドが本明細書で開示されるナノ粒子に含有され得、または、ペプチドの複合体、誘導体、類似体もしくはペグ化形態であり得る。一実施形態におい

50

て、LyP-1ペプチドを含むナノ粒子は、シグナルセンサーポリヌクレオチドを含み得、がん治療および／または画像処理のために使用され得る。

【0416】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、制限なく、Silence Therapeutics (London, United Kingdom) によるATUPLEX (商標) 系、DACC系、DBTC系、および他のsiRNA-リボプレックス技術、STEMGENT (登録商標) (Cambridge, MA) によるSTEMFECT (商標)、ならびにポリエチレンイミン (PEI) またはプロタミンベースの標的を定めたおよび標的を定めない核酸送達等の、リボプレックスとして製剤化される (すべてが参照により全体が本明細書に組み込まれる、Aleku et al., Cancer Res. 2008 68:9788-9798、Strumberg et al., Int J Clin Pharmacol Ther 2012 50:76-78、Santel et al., Gene Ther 2006 13:1222-1234、Santel et al., Gene Ther 2006 13:1360-1370、Gutbier et al., Pulm Pharmacol. Ther. 2010 23:334-344、Kaufman et al., Microvasc Res 2010 80:286-293 Weide et al., J Immunother. 2009 32:498-507、Weide et al., J Immunother. 2008 31:180-188、Pascolo Expert Opin. Biol. Ther. 4:1285-1294、Fotin-Mleczek et al., 2011 J. Immunother. 34:1-15、Song et al., Nature Biotechnol. 2005, 23:709-717、Peer et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2007 6;104:4095-4100、deFouge rolles Hum Gene Ther. 2008 19:125-132)。

【0417】

一実施形態において、そのような製剤は、それらが受動的または能動的に、肝細胞、免疫細胞、腫瘍細胞、内皮細胞、抗原提示細胞、および白血球を含むが、これらに限定されない異なる細胞型をインビボで指向するようにも構築され得るか、または組成を変化し得る (すべてが参照により全体が本明細書に組み込まれる、Akinc et al. Mol Ther. 2010 18:1357-1364、Song et al., Nat Biotechnol. 2005 23:709-717、Judge et al., J Clin Invest. 2009 119:661-673、Kaufmann et al., Microvasc Res 2010 80:286-293、Santel et al., Gene Ther 2006 13:1222-1234、Santel et al., Gene Ther 2006 13:1360-1370、Gutbier et al., Pulm Pharmacol. Ther. 2010 23:334-344、Basha et al., Mol. Ther. 2011 19:2186-2200、Fenske and Cullis, Expert Opin Drug Deliv. 2008 5:25-44、Peer et al., Science. 2008 319:627-630、Peer and Lieberman, Gene Ther. 2011 18:1127-1133)。肝臓細胞に対する製剤の受動的な標的化の一例としては、DLin-DMA、DLin-KC2-DMA、およびMC3ベースの脂質ナノ粒子製剤が挙げられ、それらはアポリポタンパク質Eに結合し、インビボでこれらの製剤の結合および肝細胞中への取り込みを促進することが示されている (参照により全体が本明細書に組み込まれる、Akinc et al., Mol Ther. 2010 18:1357-1364)。製剤は、葉酸塩、トランスフェリン、N-アセチルガラクトサミン (GalNAc)、および抗体で標的を定めるアプローチにより例として示されるが、これらによって限定されない、それらの表面上の異なるリガンドの発現を介して選択的に標的を定めることもできる (すべてが参照により全体が

本明細書に組み込まれる、Kolhatkar et al., Curr Drug Discov Technol. 2011 8:197-206、Musacchio and Torchilin, Front Biosci. 2011 16:1388-1412、Yu et al., Mol Membr Biol. 2010 27:286-298、Patil et al., Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 2008 25:1-61、Benoit et al., Biomacromolecules. 2011 12:2708-2714、Zhao et al., Expert Opin Drug Deliv. 2008 5:309-319、Akinç et al., Mol Ther. 2010 18:1357-1364、Srinivasan et al., Methods Mol Biol. 2012 820:105-116、Ben-Arie et al., Methods Mol Biol. 2012 757:497-507、Peer 2010 J Control Release. 20:63-68、Peer et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2007 104:4095-4100、Kim et al., Methods Mol Biol. 2011 721:339-353、Subramanya et al., Mol Ther. 2010 18:2028-2037、Song et al., Nat Biotechnol. 2005 23:709-717、Peer et al., Science. 2008 319:627-630、Peer and Lieberman, Gene Ther. 2011 18:1127-1133)。

10

20

【0418】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、固体脂質ナノ粒子として製剤化される。固体脂質ナノ粒子(SLN)は、平均直径が10~1000nmの球状であり得る。SLNは、親油性分子を可溶化することができ、界面活性剤および／または乳化剤により安定化され得る、固体脂質コアマトリックスを有する。さらなる実施形態において、脂質ナノ粒子は、自己集合性脂質-ポリマーナノ粒子であってもよい(参照により全体が本明細書に組み込まれる、Zhang et al., ACS Nano, 2008, 2(8), pp 1696-1702を参照のこと)。

【0419】

リボソーム、リボプレックス、または脂質ナノ粒子は、これらの製剤が、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNAによる細胞形質移入を増加させ、かつ／またはコードされたタンパク質の翻訳を増加させることが可能であり得るため、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの指示によるタンパク質産生の有効性を改善するために使用されてもよい。1つのそのような例は、リボプレックスプラスミドDNAの有効な全身送達を可能にするための脂質カプセル封入の使用を伴う(参照により全体が本明細書に組み込まれる、Heyes et al., Mol Ther. 2007 15:713-720)。リボソーム、リボプレックス、または脂質ナノ粒子は、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの安定性を増加させるためにも使用され得る。

30

40

【0420】

ポリマー、生分解性ナノ粒子、およびコア-シェルナノ粒子

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、天然および／または合成ポリマーを用いて製剤化することができる。送達に使用され得るポリマーの非限定的な例としては、MIRUS(登録商標)Bio(Madison, WI)およびRoche Madison(Madison, WI)によるDynamic POLYCONJUGATE(商標)製剤、制限なく、SMARTT POLYMER TECHNOLOGY(商標)(Seattle, WA)等のPHASERX(商標)ポリマー製剤、DMRI/DOPE、ポロキサマー、Vical(San Diego, CA)によるVAXFECTIN(登録商標)アジュバント、キトサン、Calando P

50

harmaceuticals (Pasadena, CA) によるシクロデキストリン、デンドリマーおよびポリ(乳酸-ε-グリコール酸)(PLGA)ポリマー、RONDEL(商標)(RNAi/オリゴヌクレオチドナノ粒子送達)ポリマー(Arrowhead Research Corporation, Pasadena, CA)、ならびにPHASERX(商標)(Seattle, WA)等であるが、これらに限定されないpH応答性ブロックコポリマー(coblock polymers)が挙げられる。

【0421】

PLGA製剤の非限定的な例としては、PLGA注入用デポーが挙げられるが、これらに限定されない(例えば、PLGAを、66%のN-メチル-2-ピロリドン(NMP)中に溶解させることによって形成され、残りの部分が水性溶媒およびロイプロリドである、ELIGARD(登録商標)。一旦注入されると、PLGAおよびロイプロリドペプチドは、皮下腔に沈殿する)。

【0422】

これらのポリマーアプローチのうちの多くは、インビボでオリゴヌクレオチドを細胞の細胞質中に送達することにおいて有効性を実証している(参照により全体が本明細書に組み込まれる、deFougerolles Hum Gene Ther. 2008 19:125-132において概説される)。核酸(この実例では小分子干渉RNA(sRNA))を用いて)の強固なインビボ送達をもたらした2つのポリマーアプローチは、動的ポリ複合体(polyconjugate)およびシクロデキストリンベースのナノ粒子である。これらの送達アプローチのうちの第1のアプローチは、動的ポリ複合体を使用し、マウスにおいてインビボでsRNAを有効に送達し、肝細胞内で内因性標的mRNAをサイレンシングすることが示されている(Rozema et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2007 104:12982-12887)。この特定のアプローチは、多成分ポリマー系であり、その主要な特長として、核酸(この実例ではsRNA)がジスルフィド結合を介して共有結合され、PEG(電荷遮蔽のため)基およびN-アセチルガラクトサミン(肝細胞標的化のため)基の両方がpH感受性結合を介して連結される、膜活性ポリマーが含まれる(Rozema et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2007 104:12982-12887)。肝細胞に結合し、エンドソームに進入すると、ポリマー複合体は、低pH環境において解体し、このポリマーがその陽電荷を露出して、エンドソームからの脱出、およびポリマーから細胞質へのsRNAの放出をもたらす。N-アセチルガラクトサミン基の、マンノース基との置き換えを介して、アシアロ糖タンパク質受容体を発現する肝細胞から、類洞内皮細胞およびクッパー細胞へと標的合わせを変化させ得ることが示された。別のポリマーアプローチは、トランスフェリンを標的とするシクロデキストリン含有ポリカチオンナノ粒子を使用することを伴う。これらのナノ粒子は、トランスフェリン受容体を発現するユーイング肉腫腫瘍細胞において、EWS-FLI1遺伝子産物の標的を定めたサイレンシングを実証してきており(Hu-Lieskovan et al., Cancer Res. 2005 65:8984-8982)、これらのナノ粒子中に製剤化されたsRNAは、非ヒト霊長類において耐性が良好であった(Heidel et al., Proc Natl Acad Sci USA 2007 104:5715-21)。これらの送達戦略の両方は、標的を定めた送達機構およびエンドソームからの脱出機構の両方を用いた合理的なアプローチを組み込む。

【0423】

ポリマー製剤は、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの持続放出または遅延放出を可能にし得る(例えば、筋肉内または皮下注入後に)。シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAについての変化した放出プロファイルは、例えば、長期間にわたってコードされたタンパク質の翻訳をもたらすことができる。ポリマー製剤をまた使用して、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの安定性を増加させ得る。生分解性ポリマーが、mmRNA以外の核酸を分解から保護するために以前に使用されており、インビボでペイロードの持続放

10

20

30

40

50

出をもたらすことが示されている（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、Rozema et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2007 104:12982-12887、Sullivan et al., Expert Opin Drug Deliv. 2010 7:1433-1446、Convertine et al., Biomacromolecules. 2010 Oct 1、Chu et al., Acc Chem Res. 2012 Jan 13、Manganiello et al., Biomaterials. 2012 33:2301-2309、Benoit et al., Biomacromolecules. 2011 12:2708-2714、Singha et al., Nucleic Acid Ther. 2011 2:133-147、deFougerolles Hum Gene Ther. 2008 19:125-132、Schaffert and Wagner, Gene Ther. 2008 16:1131-1138、Chaturvedi et al., Expert Opin Drug Deliv. 2011 8:1455-1468、Davis, Mol Pharm. 2009 6:659-668、Davis, Nature 2010 464:1067-1070）。

10

【0424】

一実施形態において、薬学的組成物は、持続放出製剤であってもよい。さらなる実施形態において、持続放出製剤は、皮下送達のためであってもよい。持続放出製剤には、PLGAミクロスフェア、エチレン酢酸ビニル（EVAc）、ポロキサマー、GELSITE（登録商標）（Nanotherapeutics, Inc. Alachua, FL）、HYLENEX（登録商標）（Halozyme Therapeutics, San Diego CA）、フィブリノーゲンポリマー（Ethicon Inc. Corne lia, GA）、TISSELL（登録商標）（Baxter International, Inc Deerfield, IL）、PEGベースのシーリング材、およびCOSEAL（登録商標）（Baxter International, Inc Deerfield, IL）等の手術用シーリング材が含まれ得る。

20

【0425】

非限定的な例として、修飾mRNAは、調整可能な放出速度を有する（例えば、数日間および数週間）PLGAミクロスフェアを調製し、シグナルセンサー修飾mRNAを、カプセル封入プロセス中にシグナルセンサー修飾mRNAの完全性を維持しながら、PLGAミクロスフェア中にカプセル封入することによって、PLGAミクロスフェア中に製剤化されてもよい。EVAcは、前臨床の持続放出埋込物適用において広範に使用される、非生分解性（non-biodegradable）の、生体適合性ポリマーである（例えば、緑内障に対するピロカルピン眼内挿入物である持続放出製品Ocuser tまたは持続放出プロゲステロン子宮内器具であるProgestasert；経皮送達系Testoderm、Duragesic、およびSelegiline；カテーテル）。ポロキサマー F-407 NFは、5℃未満の温度で低粘度を有する、親水性の非イオン性界面活性剤であるポリオキシエチレンーポリオキシプロピレンーポリオキシエチレンのトリブロックコポリマーであり、15℃を超える温度で固体ゲルを形成する。PEGベースの手術用シーリング材は、1分間で調製することができ、3分間でシーリングし、30日以内に再吸収される、送達デバイスにおいて混合された2つの合成PEG構成成分を含む。GELSITE（登録商標）および天然ポリマーは、投与部位におけるインサイトのゲル化が可能である。それらは、イオン性相互作用（interaction）を介してタンパク質およびペプチド治療候補と相互作用して、安定化効果を提供することが示されている。

30

40

【0426】

ポリマー製剤は、葉酸塩、トランスフェリン、およびN-アセチルガラクトサミン（GalNAc）により例として示されるが、これらによって限定されない異なるリガンドの発現を介して選択的に標的を定めることもできる（参照により全体が本明細書に組み込まれる、Benoit et al., Biomacromolecules. 2011

50

12:2708-2714、Rozema et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2007 104:12982-12887、Davis, Mol Pharm. 2009 6:659-668、Davis, Nature 2010 464:1067-1070)。

【0427】

本発明のシグナルセンサーmmRNAは、ポリマー化合物とともにまたはポリマー化合物中に製剤化されてもよい。ポリマーには、ポリエチレングリコール(PEG)、ポリ(1-リジン)(PLL)、PLLにグラフトされたPEG、カチオン性リポポリマー、生分解性カチオン性リポポリマー、ポリエチレンイミン(PEI)、架橋分岐状ポリ(アルキレンイミン)、ポリアミン誘導体、修飾ポロキサマー、生分解性ポリマー、生分解性ブロックコポリマー、生分解性ランダムコポリマー、生分解性ポリエステルコポリマー、生分解性ポリエステルブロックコポリマー、生分解性ポリエステルブロックランダムコポリマー、線状生分解性コポリマー、ポリ[α -(4-アミノブチル)-L-グリコール酸](PAGA)、生分解性架橋カチオン性マルチブロックコポリマーまたはこれらの組み合わせであるが、これらに限定されない少なくとも1つのポリマーが含まれてもよい。

【0428】

非限定的な例として、シグナルセンサーmmRNAは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許第6, 177, 274号に記載のPLLでグラフトされたPEGのポリマー化合物とともに製剤化されてもよい。製剤は、インビトロで細胞を形質移入するため、またはシグナルセンサーmmRNAのインビボ送達のために使用されてもよい。別の例において、シグナルセンサーmmRNAは、カチオン性ポリマーを含む溶液もしくは媒体中に、乾燥した薬学的組成物中に、または各々が参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる米国公開第20090042829号および同第20090042825号に記載の乾燥させることができる溶液中に懸濁させてもよい。

【0429】

ポリアミン誘導体を用いて、核酸を送達するか、または疾患を治療および／もしくは予防するか、または埋込型もしくは注入型デバイスに含めてもよい(参照により全体が本明細書に組み込まれる、米国公開第20100260817号)。非限定的な例として、薬学的組成物は、シグナルセンサーmmRNA、ならびに内容が参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国公開第20100260817号に記載のポリアミン誘導体を含んでもよい。

【0430】

例えば、本発明のシグナルセンサーmmRNAは、ポリ(アルキレンイミン)、生分解性カチオン性リポポリマー、生分解性ブロックコポリマー、生分解性ポリマー、もしくは生分解性ランダムコポリマー、生分解性ポリエステルブロックコポリマー、生分解性ポリエステルポリマー、生分解性ポリエステルランダムコポリマー、線状生分解性コポリマー、PAGA、生分解性架橋カチオン性マルチブロックコポリマー、またはこれらの組み合わせを含む薬学的化合物中に製剤化されてもよい。生分解性カチオン性リポポリマーは、当技術分野で既知の私の方法、ならびに／または参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第6, 696, 038号、米国出願第20030073619号、および同第20040142474号に記載の方法によって作製されてもよい。ポリ(アルキレンイミン)は、当技術分野で既知の方法、および／または参照により全体が本明細書に組み込まれる米国公開第20100004315号に記載の方法を用いて作製されてもよい。生分解性(biodegradable)ポリマー、生分解性ブロックコポリマー、生分解性ランダムコポリマー、生分解性ポリエステルブロックコポリマー、生分解性ポリエステルポリマー、または生分解性ポリエステルランダムコポリマーは、当技術分野で既知の方法、ならびに／または各々の内容が参照により全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第6, 517, 869号および同第6, 267, 987号に記載の方法を用いて作製されてもよい。線状生分解性コポリマーは、当技術分野で既知であり、かつ／または米国特許第6, 652, 886号に記載の方法を用いて作製されてもよい。PAGA

ポリマーは、当技術分野で既知の方法、ならびに／または参照により全体が本明細書に組み込まれる米国特許第 6, 217, 912 号に記載の方法を用いて作製されてもよい。PAGA ポリマーは、共重合して、ポリ-L-リジン、ポリアルギン (poly argine)、ポリオルニチン、ヒストン、アビジン、プロタミン、ポリラクチド、およびポリ (ラクチド-co-グリコリド) 等であるが、これらに限定されないポリマーとともにコポリマーまたはブロックコポリマーを形成してもよい。生分解性架橋カチオン性マルチブロックコポリマーは、当技術分野で既知の方法、ならびに／または参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第 8, 057, 821 もしくは米国公開第 2012009145 号に記載の方法によって作製されてもよい。例えば、マルチブロックコポリマーは、分岐状ポリエチレンイミンと比較して明確に異なるパターンを有する線状ポリエチレンイミン (LPEI) ブロックを用いて合成されてもよい。さらに、組成物または薬学的組成物は、当技術分野で既知の方法、本明細書に記載の方法、または参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国公開第 20100004315 号もしくは米国特許第 6, 267, 987 号および同第 6, 217, 912 号に記載の方法によって作製されてもよい。

10

【0431】

参照により全体が本明細書に組み込まれる米国公開第 20100004313 号に記載されるように、遺伝子送達組成物は、ヌクレオチド配列およびポロキサマーを含んでもよい。例えば、本発明 (present invention) のシグナルセンサー mmRNA は、米国公開第 20100004313 号に記載のポロキサマーを含む遺伝子送達組成物において使用されてもよい。

20

【0432】

一実施形態において、本発明のポリマー製剤は、カチオン性担体を含み得るポリマー製剤を、コレステロール基およびポリエチレングリコール基に共有結合され得るカチオン性リポポリマーと接触させることによって、安定化されてもよい。ポリマー製剤は、参照により全体が本明細書に組み込まれる米国公開第 20090042829 号に記載の方法を用いてカチオン性リポポリマーと接触させてもよい。カチオン性担体には、ポリエチレンイミン、ポリ (トリメチレンイミン)、ポリ (テトラメチレンイミン)、ポリプロピレンイミン、アミノグリコシド-ポリアミン、ジデオキシ-ジアミノ-b-シクロデキストリン、スペルミン、スペルミジン、ポリ (2-ジメチルアミノ) エチルメタクリレート、ポリ (リジン)、ポリ (ヒスチジン)、ポリ (アルギニン)、カチオン化ゼラチン、デンドリマー、キトサン、1, 2-ジオレオイル-3-トリメチルアンモニウム-プロパン (DOTAP)、N-[1-(2, 3-ジオレオイルオキシ) プロピル]-N, N, N-トリメチルアンモニウムクロリド (DOTMA)、1-[2-(オレオイルオキシ) エチル]-2-オレイル-3-(2-ヒドロキシエチル) イミダゾリニウムクロリド (DOTIM)、2, 3-ジオレイルオキシ-N-[2 (スペルミンカルボキサミド) エチル]-N, N-ジメチル-1-プロパンアミニウムトリフルオロ酢酸塩 (DOSPA)、3B-[N-(N', N'-ジメチルアミノエタン)-カルバモイル] コレステロール塩酸塩 (DC-コレステロールHCl) ジヘプタデシルアミドグリシルスペルミジン (DOGS)、N, N-ジステアシル-N, N-ジメチルアンモニウムブロミド (DDAB)、N-(1, 2-ジミリスチルオキシプロパー-3-イル)-N, N-ジメチル-N-ヒドロキシエチルアンモニウムブロミド (DMRIE)、N, N-ジオレイル-N, N-ジメチル塩化アンモニウム (DODAC)、およびこれらの組み合わせが含まれてもよいが、これらに限定されない。

30

40

【0433】

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および mmRNA は、ポリマー、脂質、および／またはリン酸カルシウム等であるが、これらに限定されない他の生分解性薬剤の組み合わせを用いてナノ粒子として製剤化することもできる。構成成分は、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および mmRNA の送達向上し得るようにナノ粒子の微調整を可能にするために、コア-シェル、ハイブリッド、および／ま

50

たは交互積層アーキテクチャとして組み合わせられてもよい（参照により全体が本明細書に組み込まれる、Wang et al., Nat Mater. 2006 5:791-796、Fuller et al., Biomaterials. 2008 29:1526-1532、DeKoker et al., Adv Drug Deliv Rev. 2011 63:748-761、Endres et al., Biomaterials. 2011 32:7721-7731、Su et al., Mol Pharm. 2011 Jun 6; 8(3):774-87）。

【0434】

脂質および／またはポリマーと組み合わせた生分解性リン酸カルシウムナノ粒子は、インビボでシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAを送達することが示されている。一実施形態において、アニスアミド等の標的化リガンドもまた含有し得る、脂質でコーティングされたリン酸カルシウムナノ粒子を用いて、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAを送達してもよい。例えば、マウス転移性肺モデルにおいてsiRNAを有効に送達するために、脂質でコーティングされたリン酸カルシウムナノ粒子が使用された（Li et al., J Contr Rel. 2010 142:416-421、Li et al., J Contr Rel. 2012 158:108-114、Yang et al., Mol Ther. 2012 20:609-615）。この送達系は、siRNAの送達を改善するために、標的を定めたナノ粒子と、エンドソームからの脱出を向上させるための構成成分リン酸カルシウムとの両方を組み合わせる。

【0435】

一実施形態において、PEG-ポリアニオンブロックコポリマーとともにリン酸カルシウムを用いて、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAを送達してもよい（Kazikawa et al., J Contr Rel. 2004 97:345-356、Kazikawa et al., J Contr Rel. 2006 111:368-370）。

【0436】

一実施形態において、PEG電荷変換型ポリマー（Pitella et al., Biomaterials. 2011 32:3106-3114）を用いて、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAを送達するためのナノ粒子を形成してもよい。PEG電荷変換型ポリマーは、酸性pHでポリカチオンへと切断され、それ故に、エンドソームからの脱出を向上させることによって、PEG-ポリアニオンブロックコポリマーを改善し得る。

【0437】

コア-シェルナノ粒子の使用は、カチオン性架橋ナノゲルコアおよび種々のシェルを合成するための高処理アプローチにさらに焦点を当てている（Siegwart et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2011 108:12996-13001）。ポリマーナノ粒子の複合体形成、送達、および内在化は、ナノ粒子のコア構成成分およびシェル構成成分の両方の化学組成を変化させることによって精密に制御することができる。例えば、コア-シェルナノ粒子は、コレステロールをナノ粒子に共有結合させた後に、siRNAをマウス肝細胞に効率的に送達し得る。

【0438】

一実施形態において、中間のPLGA層およびPEGを含有する外側の中性脂質層を含む、中空の脂質コアを用いて、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAを送達してもよい。非限定的な例として、ルシフェラーゼ（luciferase）発現腫瘍を担持するマウスにおいて、脂質-ポリマー-脂質ハイブリッドナノ粒子が、従来のリポプレックスと比較して、ルシフェラーゼ発現を有意に抑制することが確認された（Shi et al., Angew Chem Int Ed. 2011 50:7027-7031）。

【0439】

ペプチドおよびタンパク質

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、ポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAによる細胞の形質移入を増加させるために、ペプチドおよび／またはタンパク質とともに製剤化することができる。一実施形態において、細胞透過性ペプチドならびに細胞内送達を可能にするタンパク質およびペプチド等であるが、これらに限定されないペプチドを用いて、薬学的製剤を送達してもよい。本発明の薬学的製剤とともに使用され得る細胞透過性ペプチドの非限定的な例としては、細胞内空間への送達を容易にする、ポリカチオンに結合した細胞透過性ペプチド配列、例えば、HIV由来TATペプチド、ペネトラチン、トランスポータン、またはhCT由来細胞透過性ペプチドである（例えば、すべてが参照により本明細書に組み込まれる、Caron et al., Mol. Ther. 3 (3): 310-8 (2001)、Langel, Cell-Penetrating Peptides: Processes and Applications (CRC Press, Boca Raton FL, 2002)、El-Andaloussi et al., Curr. Pharm. Des. 11 (28): 3597-611 (2003)、およびDeshayes et al., Cell. Mol. Life Sci. 62 (16): 1839-49 (2005)を参照のこと）。組成物は、組成物の細胞内空間への送達を向上させる細胞透過性薬剤、例えば、リポソームを含むように製剤化することもできる。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、細胞内送達を可能にするために、Aileron Therapeutics (Cambridge, MA) および Permeon Biologics (Cambridge, MA) によるペプチドおよび／またはタンパク質等であるが、これらに限定されない、ペプチドおよび／またはタンパク質に複合体形成されてもよい（すべてが参照により全体が本明細書に組み込まれる、Cronican et al., ACS Chem. Biol. 2010 5: 747-752、McNaughton et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2009 106: 6111-6116、Sawyer, Chem Biol Drug Des. 2009 73: 3-6、Verdine and Hilinski, Methods Enzymol. 2012; 503: 3-33）。

【0440】

一実施形態において、細胞透過性ポリペプチドは、第1のドメインおよび第2のドメインを含み得る。第1のドメインは、超荷電ポリペプチドを含み得る。第2のドメインは、タンパク質結合パートナーを含み得る。本明細書で使用されるとき、「タンパク質結合パートナー」には、抗体およびその機能的断片、足場タンパク質、またはペプチドが含まれるが、これらに限定されない。細胞透過性ポリペプチドは、タンパク質結合パートナーのための細胞内結合パートナーをさらに含み得る。細胞透過性ポリペプチドは、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAが導入され得る細胞から分泌されることが可能であり得る。

【0441】

ペプチドまたはタンパク質を含む製剤を用いて、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNAによる細胞形質移入を増加させ、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNAの生体分布を変化させ（例えば、具体的な組織または細胞型を標的とすることによって）、かつ／またはコードされたタンパク質の翻訳を増加させることができる。

【0442】

細胞

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、エクスピボで細胞中に形質移入することができ、それがその後、対象に移植される。非限定的な例として、薬学的組成物は、修飾RNAを肝臓および骨髄細胞に送達するための赤血球、修飾RNAをウイルス様粒子 (VLP) 中で送達するためのビロソーム、ならびに MAXCYTE (登録商標) (Gaithersburg, MD) による細胞、および ERY

TECH（登録商標）（Lyon, France）による細胞等であるが、これらに限定されない、修飾RNAを送達するためのエレクトロポレーション処理された細胞を含んでもよい。mmRNA以外のペイロードを送達するための赤血球、ウイルス粒子、およびエレクトロポレーション処理された細胞の使用例が、文書化されている（すべてが参照により全体が本明細書に組み込まれる、Godfrin et al., Expert Opin Biol Ther. 2012 12:127-133、Fang et al., Expert Opin Biol Ther. 2012 12:385-389、Hu et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2011 108:10980-10985、Lund et al., Pharm Res. 2010 27:400-420、Huckriede et al., J Liposome Res. 2007; 17:39-47、Cusi, Hum Vaccin. 2006 2:1-7、de Jonge et al., Gene Ther. 2006 13:400-411）。

【0443】

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAの細胞ベースの製剤を用いて、細胞形質移入を確実にし（例えば、細胞担体中の）、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNAの生体分布を変化させ（例えば、細胞担体の標的を具体的な組織または細胞型に定めることによって）、かつ／またはコードされた腫瘍学関連タンパク質の翻訳を増加させてもよい。

【0444】

ウイルスおよび非ウイルス媒介性技法を含む、核酸の細胞内への導入に好適である多様な方法が当技術分野で知られている。典型的な非ウイルス媒介性技法の例としては、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム媒介性移入、ヌクレオフエクシオン、ソノポレーション、熱ショック、マグネトフェクシオン、リボソーム媒介性移入、マイクロインジェクション、マイクロプロジェクトイル媒介性移入（ナノ粒子）、カチオン性ポリマー媒介性移入（DEAE-デキストラン、ポリエチレンイミン、ポリエチレングリコール（PEG）等）、または細胞融合が挙げられるが、これらに限定されない。

【0445】

ソノポレーション、または細胞超音波処理の技法は、細胞原形質膜の透過性修飾するために音（例えば、超音波周波数）を使用するものである。ソノポレーション法は、当業者に知られており、インビボで核酸を送達するために使用される（すべて参照により全体が本明細書に組み込まれる、Yoon and Park, Expert Opin Drug Deliv. 2010 7:321-330、Postema and Gilja, Curr Pharm Biotechnol. 2007 8:355-361、Newman and Bettinger, Gene Ther. 2007 14:465-475）。ソノポレーション法は、当技術分野で知られており、また、例えば、それが細菌に関する場合には、米国特許公開第20100196983号において、それが他の細胞型に関する場合には、例えば、米国特許公開20100009424号において教示され、これらの各々は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【0446】

エレクトロポレーション技法もまた、当技術分野で周知であり、インビボでおよび臨床的に核酸を送達するために使用される（すべて参照により全体が本明細書に組み込まれる、Andre et al., Curr Gene Ther. 2010 10:267-280、Chiarella et al., Curr Gene Ther. 2010 10:281-286、Hojman, Curr Gene Ther. 2010 10:128-138）。一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、実施例12に記載されるようにエレクトロポレーションによって送達され得る。

【0447】

ヒアルロニダーゼ

10

20

30

40

50

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの筋肉内または皮下局所注入は、ヒアルロナンの加水分解を触媒する、ヒアルロニダーゼを含むことができる。介在性の関門の構成物質であるヒアルロナンの加水分解を触媒することによって、ヒアルロニダーゼは、ヒアルロナンの粘度を低下させて、それによって組織透過性を増加させる（参照により全体が本明細書に組み込まれる、Frost, Expert Opin. Drug Deliv. (2007) 4: 427-440）。それらの分散および形質移入された細胞によって産生されるコードされたタンパク質の全身への分布を加速することが有用である。あるいは、ヒアルロニダーゼを用いて、筋肉内にまたは皮下に投与された本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAに曝露される細胞の数を増加させることができる。

10

【0448】

ナノ粒子模倣体

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、ナノ粒子模倣体内にカプセル封入されかつ／またはそれに吸収され得る。ナノ粒子模倣体は、病原体、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫、プリオン、および細胞等であるが、これらに限定されない、生物または粒子の送達機能を模倣することができる。非限定的な例として、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、ウイルスの送達機能を模倣することができる非バイロン(viron)粒子中にカプセル封入されてもよい（参照により全体が本明細書に組み込まれる、国際公開第WO2012006376号を参照のこと）。

20

【0449】

ナノチューブ

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、ロゼットナノチューブ、リンカーを用いたツイン塩基(twin bases)を有するロゼットナノチューブ、カーボンナノチューブおよび／または単層カーボンナノチューブ等であるが、これらに限定されない、少なくとも1つのナノチューブに付着または結合され得る。シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、立体(steric)力、イオン力、共有結合力、および／または他の力等であるが、これらに限定されない力を介してナノチューブに結合され得る。

【0450】

一実施形態において、ナノチューブは、1つ以上のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを細胞内に放出することができる。少なくとも1つのナノチューブのサイズおよび／または表面構造を、体内でナノチューブの相互作用を制御し、かつ／または本明細書に開示のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNAに付着または結合するように変化させることができる。一実施形態において、少なくとも1つのナノチューブのビルディングブロックおよび／またはそのビルディングブロックに結合される官能基を、ナノチューブの寸法および／または特性を調整するように変化させることができる。非限定的な例として、ナノチューブの長さは、ナノチューブが正常な血管の壁の穴を通過するのを妨害するが、依然として腫瘍組織の血管におけるより大きい穴を通過するのに十分に小さくあるように変化させてもよい。

40

【0451】

一実施形態において、少なくとも1つのナノチューブは、ポリエチレングリコール等であるが、これらに限定されないポリマーを含む送達向上化合物でコーティングされてもよい。別の実施形態において、少なくとも1つのナノチューブおよび／またはシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、薬学的に許容される賦形剤および／または送達ビヒクルと混合されてもよい。

【0452】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、少なくとも1つのロゼットナノチューブに付着および／または結合される。ロゼットナノチューブは、当技術分野で既知のプロセスによって、かつ／または参照により全

50

体が本明細書に組み込まれる国際公開第W O 2 0 1 2 0 9 4 3 0 4号に記載のプロセスによって形成され得る。少なくとも1つのシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および／またはmmRNAは、参照により全体が本明細書に組み込まれる国際公開第W O 2 0 1 2 0 9 4 3 0 4号に記載のプロセスによって、少なくとも1つのロゼットナノチューブに付着および／または結合されてもよく、ここでロゼットナノチューブまたはロゼットナノチューブを形成するモジュールは、水性媒体中で、少なくとも1つのシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAがロゼットナノチューブに付着または結合するようになり得る条件下で、少なくとも1つのシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、および／またはmmRNAと混合される。

【0453】

複合体

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、担体もしくは標的化基に共有結合された、または一緒に融合タンパク質を産生する2つのコード領域を含む（例えば、標的化基および治療的タンパク質またはペプチドを担持する）、ポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA等の複合体を含む。

【0454】

本発明の複合体は、タンパク質（例えば、ヒト血清アルブミン（HSA）、低比重リポタンパク質（LDL）、高比重リポタンパク質（HDL）、またはグロブリン）、炭水化物（例えば、デキストラン、プルラン、キチン、キトサン、イヌリン、シクロデキストリンまたはヒアルロン酸）、または脂質等の、天然に生じる物質を含む。リガンドは、合成ポリマー、例えば、合成ポリアミノ酸、オリゴヌクレオチド（例えば、アプタマー）等の組換えまたは合成分子であってもよい。ポリアミノ酸の例としては、ポリアミノ酸は、ポリリジン（PLL）、ポリL-アスパラギン酸、ポリL-グルタミン酸、スチレン-マレイン酸無水物コポリマー、ポリ（L-ラクチド-*c o*-グリコリド（glycolide））コポリマー、ジビニルエーテル-マレイン酸無水物コポリマー、N-（2-ヒドロキシプロピル）メタクリルアミドコポリマー（HMPA）、ポリエチレングリコール（PEG）、ポリビニルアルコール（PVA）、ポリウレタン、ポリ（2-エチルアクリル（acryllic）酸）、N-イソプロピルacrylアミドポリマー、またはポリホスファゼン（polyphosphazene）が挙げられる。ポリアミンの例としては、ポリエチレンイミン、ポリリジン（PLL）、スペルミン、スペルミジン、ポリアミン、シェードペプチド-ポリアミン、ペプチド模倣ポリアミン、デンドリマーポリアミン、アルギニン、アミジン、プロタミン、カチオン性脂質、カチオン性ポリフィリン、ポリアミンの第四級塩、 α ヘリックスペプチドが挙げられる。

【0455】

ポリヌクレオチド複合体の調製、特にRNAへの調製を教示する、代表的な米国特許には、各々が参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第4,828,979号、同第4,948,882号、同第5,218,105号、同第5,525,465号、同第5,541,313号、同第5,545,730号、同第5,552,538号、同第5,578,717号、5,580,731号、同第5,591,584号、同第5,109,124号、同第5,118,802号、同第5,138,045号、同第5,414,077号、同第5,486,603号、同第5,512,439号、同第5,578,718号、同第5,608,046号、同第4,587,044号、同第4,605,735号、同第4,667,025号、同第4,762,779号、同第4,789,737号、同第4,824,941号、同第4,835,263号、同第4,876,335号、同第4,904,582号、同第4,958,013号、同第5,082,830号、同第5,112,963号、同第5,214,136号、同第5,082,830号、同第5,112,963号、同第5,214,136号、同第5,245,022号、同第5,254,469号、同第5,258,506号、同第5,262,536号、同第5,272,250号、同第5,292,873号、同第5,317,098号、同第5,371,241号、同第5,391,723号、同第5,416,203

10

20

30

40

50

号、同第5, 451, 463号、同第5, 510, 475号、同第5, 512, 667号、同第5, 514, 785号、同第5, 565, 552号、同第5, 567, 810号、同第5, 574, 142号、同第5, 585, 481号、同第5, 587, 371号、同第5, 595, 726号、同第5, 597, 696号、同第5, 599, 923号、同第5, 599, 928号および同第5, 688, 941号、同第6, 294, 664号、同第6, 320, 017号、同第6, 576, 752号、同第6, 783, 931号、同第6, 900, 297号、同第7, 037, 646号が含まれるが、これらに限定されない。

【0456】

一実施形態において、本発明の複合体は、本発明のシグナルセンサーmmRNAのための担体として機能し得る。複合体は、ポリ（エチレングリコール）でグラフトされ得る、ポリアミン、ポリリジン、ポリアルキレンイミン、およびポリエチレンイミン等であるが、これらに限定されないカチオン性ポリマーを含んでもよい。非限定的な例として、複合体は、ポリマー複合体と同様であってもよく、ポリマー複合体を合成する方法は、参照により全体が本明細書に組み込まれる米国特許第6, 586, 524号に記載されている。

【0457】

複合体は、標的化基、例えば、細胞または組織標的化薬剤、例えば、レクチン、糖タンパク質、脂質、またはタンパク質、例えば、腎臓細胞等の指定される細胞型に結合する抗体も含み得る。標的化基は、チロトロピン、メラノトロピン、レクチン、糖タンパク質、サーファクタントタンパク質A、ムチン炭水化物、多価ラクトース、多価ガラクトース、N-アセチル-ガラクトサミン、N-アセチル-グルコサミン多価マンノース、多価フコース、グリコシル化ポリアミノ酸、多価ガラクトース、トランスフェリン、ビスホスホネート、ポリグルタミン酸塩、ポリアスパラギン酸塩、脂質、コレステロール、ステロイド、胆汁酸、葉酸塩、ビタミンB12、ビオチン、RGDペプチド、RGDペプチド模倣体、またはアプタマーであり得る。

【0458】

標的化基は、タンパク質、例えば、糖タンパク質、またはペプチド、例えば、コリガン（co-ligand）に対する特異的親和性を有する分子、または抗体、例えば、癌細胞、内皮細胞、もしくは骨細胞等の指定される細胞型に結合する抗体であり得る。標的化基には、ホルモンおよびホルモン受容体も含まれ得る。それらには、等の脂質、レクチン、炭水化物、ビタミン、補因子、多価ラクトース、多価ガラクトース、N-アセチル-ガラクトサミン、N-アセチル-グルコサミン多価マンノース、多価フコース、またはアプタマー等の非ペプチド種も含まれ得る。リガンドは、例えば、リボ多糖、またはp38 MAPキナーゼの活性化因子であり得る。

【0459】

標的化基は、具体的な受容体を標的とすることが可能な任意のリガンドであり得る。例としては、制限なく、葉酸塩、GalNAc、ガラクトース、マンノース、マンノース-6P、アプタマー（aptamers）、インテグリン受容体リガンド、ケモカイン受容体リガンド、トランスフェリン、ビオチン、セロトニン受容体リガンド、PSMA、エンドセリン、GCP11、ソマトスタチン、LDL、およびHDLリガンドが挙げられる。特定の実施形態において、標的化基は、アプタマーである。アプタマーは、修飾されていないことも、本明細書に開示の修飾の任意の組み合わせを有することもあり得る。

【0460】

一実施形態において、本発明の薬学的組成物は、ロックト核酸と同様の修飾等であるが、これらに限定されない化学修飾を含んでもよい。

【0461】

Santarisによるもの等のロックト核酸（LNA）の調製を教示する、代表的な米国特許には、各々が参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第6, 268, 490号、同第6, 670, 461号、同第6, 794, 499号、同第6, 998, 484号、同第7, 053, 207号、同第7, 084, 125号、および同第7,

10

20

30

40

50

399, 845号が含まれるが、これらに限定されない。

【0462】

PNA化合物の調製を教示する、代表的な米国特許には、各々が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第5, 539, 082号、同第5, 714, 331号、および同第5, 719, 262号が含まれるが、これらに限定されない。PNA化合物のさらなる教示は、例えば、Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500において見出すことができる。

【0463】

本発明の特色をなすいくつかの実施形態は、ホスホロチオエート骨格を有するシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA、ならびに他の修飾骨格、特に、上に参照される米国特許第5, 489, 677号の $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{O}-\text{CH}_2-$ [メチレン(メチルイミノ)またはMMI骨格として知られている]、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 、および $-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ [式中、天然ホスホジエステル骨格は、 $-\text{O}-\text{P}(\text{O})_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ として表される]、および上に参照される米国特許第5, 602, 240号のアミド骨格を有する、オリゴヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、本明細書の特色をなすポリヌクレオチド(polynucleotides)は、上に参照される米国特許第5, 034, 506号のモルホリノ骨格構造を有する。

【0464】

2'位における修飾もまた、送達を補助し得る。好ましくは、2'位における修飾は、ポリペプチドコード配列には位置しない、すなわち、翻訳可能領域にない。2'位における修飾は、5'UTR、3'UTR、および/または尾部領域に位置してもよい。2'位における修飾は、2'位において次のうちの1つを含むことができる：H(すなわち、2'-デオキシ)；F；O-、S-、もしくはN-アルキル；O-、S-、もしくはN-アルケニル；O-、S-、もしくはN-アルキニル；またはO-アルキル-O-アルキル(式中、アルキル、アルケニル、およびアルキニルは、置換または非置換 $\text{C}_1\sim\text{C}_{10}$ アルキルまたは $\text{C}_2\sim\text{C}_{10}$ アルケニルおよびアルキニルであってもよい。例示の好適な修飾には、 $\text{O}[(\text{CH}_2)_n\text{O}]_m\text{CH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{OCH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{ONH}_2$ 、および $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{ON}[(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3]_2$ が含まれ、式中、nおよびmは、1～約10である。他の実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、2'位において次のうちの1つを含む： $\text{C}_1\sim\text{C}_{10}$ 低級アルキル、置換低級アルキル、アルカリール、アラールキル、O-アルカリールもしくはO-アラールキル、SH、SCH₃、OCN、Cl、Br、CN、CF₃、OCF₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ON₂、NO₂、N₃、NH₂、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルカリール、アミノアルキルアミノ、ポリアルキルアミノ、置換シリル、RNA切断基、レポーター基、インターカレーター、薬物動態特性を改善するための基、または薬力学特性を改善するための基、および同様の特性を有する他の置換基。いくつかの実施形態において、修飾は、2'-メトキシエトキシ(2'-O-CH₂CH₂OCH₃(2'-O-(2'-メトキシエチル)または2'-MOE)としても知られている)(Martinet et al., Helv. Chim. Acta, 1995, 78:486-504)すなわち、アルコキシ-アルコキシ基を含む。別の例示の修飾は、本明細書の以下の実施例に記載の2'-ジメチルアミノオキシエトキシ、すなわち、 $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{ON}(\text{CH}_3)_2$ 基(2'-DMAOEとしても知られている)、および同様に本明細書の以下の実施例に記載の2'-ジメチルアミノエトキシ(当技術分野で2'-O-ジメチルアミノエトキシエチルまたは2'-DMAEOEとしても知られる)、すなわち、 $2'-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_2)_2$ である。他の修飾は、2'-メトキシ(2'-OCH₃)、2'-アミノプロポキシ(2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂)、および2'-フルオロ(2'-F)を含む。同様の修飾は、他の位置、特に3'末端ヌクレオチド上の糖の3'位で、または2'-

10

20

30

40

50

5'結合dsRNAにおいて、および5'末端ヌクレオチドの5'位で行われてもよい。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドは、ペントフラノシル糖の代わりに、シクロブチル部分等の糖模倣体を有してもよい。そのような修飾糖構造の調製を教示する代表的な米国特許には、各々が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第4,981,957号、同第5,118,800号、同第5,319,080号、同第5,359,044号、同第5,393,878号、同第5,446,137号、同第5,466,786号、同第5,514,785号、同第5,519,134号、同第5,567,811号、同第5,576,427号、同第5,591,722号、同第5,597,909号、同第5,610,300号、同第5,627,053号、同第5,639,873号、同第5,646,265号、同第5,658,873号、同第5,670,633号、および同第5,700,920号が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0465】

依然として他の実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、細胞透過性ポリペプチドに共有結合的に複合体化される。細胞透過性ペプチドは、シグナルペプチド配列も含み得る。本発明の複合体は、増加した安定性、増加した細胞形質移入、および／または変化した生体分布（例えば、具体的な組織または細胞型に標的を定められる）を有するように設計することができる。

【0466】

自己集合性核酸ナノ粒子

自己集合性ナノ粒子は、核酸鎖が容易にリプログラミング可能であり得るように精密に制御され得る、明確に定義されたサイズを有する。例えば、20nm超の直径が、向上した透過性および保持効果により腎クリアランスを回避し、ある特定の腫瘍への送達を向上させるため、癌標的化ナノ送達担体のために最適な粒径は、20～100nmである。自己集合性核酸ナノ粒子を用いて、向上した送達のために癌標的化リガンドの精密に制御された空間定位および密度を有する、サイズおよび形が均一な単一の集団。非限定的な例として、オリゴヌクレオチドナノ粒子が、短いDNA断片および治療的siRNAのプログラミング可能な自己集合を用いて調製された。これらのナノ粒子は、制御可能な粒径ならびに標的リガンド箇所および密度を有して、分子的に同一である。DNA断片およびsiRNAは、1ステップ反応へと自己集合して、標的を定めたインビボ送達のためにDNA/siRNA四面体ナノ粒子を生成した。(Lee et al., Nature Nanotechnology 2012 7:389-393)。

20

30

【0467】

賦形剤

薬学的製剤は、本明細書で使用されるとき、所望される特定の剤形に適している、ありとあらゆる溶媒、分散媒体、希釈剤、または他の液体ビヒクル、分散もしくは懸濁助剤、界面活性剤、等張剤、増粘剤もしくは乳化剤、防腐剤、固体結合剤、滑沢剤等を含む、薬学的に許容される賦形剤をさらに含んでもよい。参照により本明細書に組み込まれる、Remington's The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, A. R. Gennaro (Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006)は、薬学的組成物を製剤化するのに使用される種々の賦形剤およびこれらの調製のための既知の技法を開示する。任意の従来の賦形剤媒体が任意の望ましくない生体影響を引き起こすか、またはさもないければ薬学的組成物の任意の他の構成成分（複数可）と有害な状態で相互作用するといった、物質またはその誘導体と不適合性である場合を除いて、その使用が本開示の範囲内で企図される。

40

【0468】

いくつかの実施形態において、薬学的に許容される賦形剤は、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%純粋である。いくつかの実施形態において、賦形剤は、ヒトにおける使用および獣医学的使用に対して認可されている。いくつかの実施形態において、賦形剤は、米国食品医薬

50

10

20

30

40

50

【0472】
例示の界面活性剤および／または乳化剤には、天然乳化剤（例えば、アカシア、寒天、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、トラガント、コンドラックス（chondrux）、コレステロール、キサントラン、ペクチン、ゼラチン、卵黄、カゼイン、羊毛脂、コレステロール、ワックス、およびレシチン）、コロイド状粘土（例えば、ベントナイト〔ケイ酸アルミニウム〕およびVEEGUM（登録商標）〔ケイ酸アルミニウムマグネシウム〕）、鎖状アミノ酸誘導体、高分子量アルコール（例えば、ステアリルアルコール、セチルアルコール、オレイルアルコール、モノステアリン酸トリアセチン（triacetin monostearate）、ジステアリン酸エチレングリコール、モノステアリン酸グリセリル、およびモノステアリン酸プロピレングリコール、ポリビニルアルコール）、カルボマー（例えば、カルボキシポリメチレン、ポリアクリル酸、アクリル酸ポリマー、およびカルボキシビニルポリマー）、カラギーナン、セルロース誘導体（例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、粉末化セルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース）、ソルビタン脂肪酸エステル（例えば、モノ라우рил酸ポリオキシエチレンソルビタン〔TWEEN（登録商標）20〕、ポリオキシエチレンソルビタン〔TWEENn（登録商標）60〕、モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン〔TWEEN（登録商標）80〕、モノパルミチン酸ソルビタン〔SPAN（登録商標）40〕、モノステアリン酸ソルビタン〔Span（登録商標）60〕、トリステアリン酸ソルビタン〔Span（登録商標）65〕、モノオレイン酸グリセリル、モノオレイン酸ソルビタン〔SPAN（登録

録商標) 80])、ポリオキシエチレンエステル (例えば、モノステアリン酸ポリオキシエチレン [MYRJ (登録商標) 45]、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリエトキシ化 (polyethoxylated) ヒマシ油、ステアリン酸ポリオキシメチレン、および SOLUTOL (登録商標))、ショ糖脂肪酸エステル、ポリエチレングリコール脂肪酸エステル (例えば、CREMOPHOR (登録商標))、ポリオキシエチレンエーテル、(例えば、ポリオキシエチレンラウリルエーテル [BRIJ (登録商標) 30])、ポリ (ビニルピロリドン)、モノラウリル酸ジエチレングリコール、オレイン酸トリエタノールアミン、オレイン酸ナトリウム、オレイン酸カリウム、オレイン酸エチル、オレイン酸、ラウリル酸エチル、ラウリル硫酸ナトリウム、PLUORINC (登録商標) F 68、POLOXAMER (登録商標) 188、臭化セトリモニウム、塩化セチルピリジニウム、塩化ベンザルコニウム、ドキュセートナトリウム等、ならびに／またはこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

10

【0473】

例示の結合剤には、デンプン (例えば、トウモロコシデンプンおよびデンプンペースト) ;ゼラチン;糖類 (例えば、ショ糖、グルコース、デキストロース、デキストリン、糖蜜、ラクトース、ラクチトール、マンニトール、) ;天然および合成ガム (例えば、アカシア、アルギン酸ナトリウム、アイリッシュ・モスの抽出物、パンワールガム (panwargum)、ガッチガム (ghattigum)、イサポール皮 (isapohlhusk) の粘液、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、微小結晶セルロース、酢酸セルロース、ポリ (ビニルピロリドン)、ケイ酸アルミニウムマグネシウム ((VEEGUM (登録商標))、およびカラマツアラビノガラクトサン (larch arabogalactan)) ;アルギン酸塩;ポリエチレンオキシド;ポリエチレングリコール;無機カルシウム塩;ケイ酸;ポリメタクリレート;ワックス;水;アルコール等;ならびにこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

20

【0474】

例示の防腐剤には、酸化防止剤、キレート剤、抗菌性防腐剤、抗真菌性防腐剤、アルコール防腐剤、酸性防腐剤、および／または他の防腐剤が含まれ得るが、これらに限定されない。例示の酸化防止剤には、 α トコフェロール、アスコルビン酸、パルミチン酸アスコルビル (ascorbic)、ブチル化ヒドロキシアニソール、ブチル化ヒドロキシトルエン、モノチオグリセロール、メタ重亜硫酸カリウム、プロピオン酸、没食子酸プロピル、アスコルビン酸ナトリウム、重亜硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、および／または硫酸ナトリウムが含まれるが、これらに限定されない。例示のキレート剤には、エチレンジアミンテトラ酢酸 (EDTA)、クエン酸一水和物、エデト酸二ナトリウム、エデト酸二カリウム、エデト酸、フマル酸、リンゴ酸、リン酸、エデト酸ナトリウム、酒石酸、および／またはエデト酸三ナトリウムが含まれる。例示の抗菌性防腐剤には、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、ベンジルアルコール、プロノポール、セトリミド、塩化セチルピリジニウム、クロルヘキシジン、クロロブタノール、クロロクレゾール、クロロキシレノール (chloroxylenol)、クレゾール、エチルアルコール、グリセリン、ヘキセチジ、イミド尿素、フェノール、フェノキシエタノール、フェニルエチルアルコール、硝酸フェニル水銀、プロピレングリコール、および／またはチメロサルが含まれるが、これらに限定されない。例示の抗真菌性防腐剤には、ブチルパラベン、メチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベン、安息香酸、ヒドロキシ安息香酸、安息香酸カリウム、ソルビン酸カリウム、安息香酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、および／またはソルビン酸が含まれるが、これらに限定されない。例示のアルコール防腐剤には、エタノール、ポリエチレングリコール、フェノール、フェノール系化合物、ビスフェノール、クロロブタノール、ヒドロキシ安息香酸塩、および／またはフェニルエチルアルコールが含まれるが、これらに限定されない。例示の酸性防腐剤には、ビタミンA、ビタミンC、ビタミンE、 β -カロテン、クエン酸、酢酸、ジヒドロ酢酸、アスコルビ

30

40

50

ン酸、ソルビン酸、および／またはフィチン酸が含まれるが、これらに限定されない。他の防腐剤には、トコフェロール、酢酸トコフェロール、メシル酸デテロキシム（d e t e r o x i m e m e s y l a t e）、セトリミド、ブチル化ヒドロキシアニソール（B H A）、ブチル化ヒドロキシトルエン（h y d r o x y t o l u e n e d）（B H T）、エチレンジアミン、ラウリル硫酸ナトリウム（S L S）、ラウリルエーテル硫酸ナトリウム（S L E S）、重亜硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、硫酸カリウム、メタ重亜硫酸カリウム、G L Y D A N T P L U S（登録商標）、P H E N O N I P（登録商標）、メチルパラベン、G E R M A L L（登録商標）115、G E R M A B E N（登録商標）I I、N E O L O N E（商標）、K A T H O N（商標）、および／またはE U X Y L（登録商標）が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0475】

例示の緩衝剤には、クエン酸緩衝液、酢酸緩衝液、リン酸緩衝液、塩化アンモニウム、炭酸カルシウム、塩化カルシウム、クエン酸カルシウム、グルビオン酸カルシウム、グルセプチン酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、d-グルコン酸、グリセロリン酸カルシウム、乳酸カルシウム、プロパン酸、レブリン酸カルシウム、ペンタン酸、第二リン酸カルシウム、リン酸、第三リン酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、酢酸カリウム、塩化カリウム、グルコン酸カリウム、カリウム混合物、第二リン酸カリウム、第一リン酸カリウム、リン酸カリウム混合物、酢酸ナトリウム、二炭酸ナトリウム、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、第二リン酸ナトリウム、第一リン酸ナトリウム、リン酸ナトリウム混合物、トロメタミン、水酸化マグネシウム、水酸化アルミニウム、アルギン酸、発熱性物質除去水、等張食塩水、リンゲル液、エチルアルコール等、および／またはこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

20

【0476】

例示の滑沢剤には、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸、シリカ、タルク、麦芽、ベヘン酸（b e h a n a t e）グリセリル、水素化植物油、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、ロイシン、ラウリル硫酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム等、およびこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

【0477】

例示の油には、アーモンド油、杏仁油、アボカド油、ババス油、ベルガモット油、ブラックカラント種子油、カデ油、カモミール油、キャノーラ油、キャラウェイ油、カルナウバ油、ヒマシ油、桂皮油、ココアバター油、ココナッツ油、タラの肝油、コーヒー油、トウモロコシ油、綿実油、エミュー油、ユーカリ油、月見草油、魚油、亜麻仁油、ゲラニオール油、ヒョウタン油、ブドウ種子油、ヘーゼルナッツ油、ヒソップ油、ミリスチン酸イソプロピル油、マンゴー種子油、メドウフォーム種子油、ミンク油、ナツメグ油、オリーブ油、オレンジ油、オレンジラフィー油、パーム油、パーム核油、桃仁油、ピーナッツ油、ケシ油、カボチャ種子油、菜種油、コメヌカ油、ローズマリー油、ベニバナ油、ジャクダン油、サスクアナ（s a s q u a n a）油、セボリー、シーバックソーン油、ゴマ油、シアバター油、シリコーン油、大豆油、ヒマワリ油、ティーツリー油、アザミ油、ツバキ油、ベチバー油、胡桃油、および小麦胚芽油が含まれるが、これらに限定されない。例示の油には、ブチルステアリン酸、カプリル酸トリグリセリド、カプリン酸トリグリセリド、シクロメチコン、セバシン酸ジエチル、ジメチコン360、ミリスチン酸イソプロピル、鉱油、オクチルドデカノール、オレイルアルコール、シリコーン油、および／またはこれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

30

40

【0478】

調合者の判断に従って、ココアバターおよび坐剤ワックス、着色剤、コーティング剤、甘味剤、香味剤、ならびに／または芳香剤等の賦形剤が、組成物中に存在し得る。

【0479】

送達

本開示は、薬物送達の科学進展の見込みを考慮した任意の適切な経路による、治療目的

50

、薬学目的、診断目的、または撮像目的のうちのいずれのためのシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの送達をも包含する。送達は、ネイキッドであっても製剤化されてもよい。

【0480】

ネイキッド送達

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、ネイキッドで細胞に送達されてもよい。本明細書で使用されるとき、「ネイキッド」とは、形質移入を促進する薬剤を用いずにシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを送達することを指す。例えば、細胞に送達されるポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、修飾を全く含有しない場合がある。ネイキッドシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、細胞に、当技術分野で既知であり、かつ本明細書に記載の投与経路を用いて送達されてもよい。

10

【0481】

製剤化された送達

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、本明細書に記載の方法を用いて製剤化されてもよい。製剤は、修飾されているかつ／または修飾されていない場合があるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを含有してもよい。製剤は、細胞透過剤、薬学的に許容される担体、送達剤、生崩壊性または生体適合性ポリマー、溶媒、および持続放出送達デポをさらに含むことができるが、これらに限定されない。製剤化されたシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、細胞に、当技術分野で既知であり、かつ本明細書に記載の投与経路を用いて送達されてもよい。

20

【0482】

組成物は、直接浸水または浸漬、カテーテルを介して、ゲル、粉末、軟膏、クリーム、ゲル、ローション、および／または液滴によって、組成物でコーティングまたは含浸された織物または生分解性材料等の基質を使用することによって等を含むが、これらに限定されない当技術分野におけるいくつかの方法のうちのいずれかにおける器官または組織への直接送達のためにも製剤化され得る。

【0483】

投与

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、治療上有効成果をもたらす任意の経路によって投与されてもよい。これらには、経腸、経胃腸、硬膜外、経口、経皮、硬膜外（硬膜上）、脳内（大脳の中へ）、脳室内（脳室の中へ）、皮膚上（皮膚上への適用）、皮内、（皮膚自体の中へ）、皮下（皮膚の下）、経鼻投与（鼻を介して）、静脈内（静脈の中へ）、動脈内（動脈の中へ）、筋肉内（筋肉の中へ）、心臓内（心臓の中へ）、骨内輸注（骨髄の中へ）、髄腔内（脊柱管の中へ）、腹腔内（腹腔の中への輸注または注入）、膀胱内輸注、硝子体内（眼を介して）、空洞内注入（陰茎基部の中へ）、腔内投与、子宮内、羊膜外投与、経皮（全身への分布のための無傷の皮膚（*intact skin*）を介した拡散）、経粘膜（粘膜を介した拡散）、ガス注入（鼻からの吸引）、舌下、口唇下、浣腸、点眼（結膜上に）、または点耳におけるもの含まれるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、組成物は、それらが血液—脳関門、血管関門、または他の上皮関門を横断することを可能にするような方式で投与されてもよい。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAのための非限定的な投与経路が以下に記載される。

30

40

【0484】

非経口および注入による投与

経口および非経口投与のための液体剤形には、薬学的に許容されるエマルション、マイクロエマルション、溶液、懸濁液、シロップ、および／またはエリキシルが含まれるが、これらに限定されない。活性成分に加えて、液体剤形は、例えば、水または他の溶媒、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコー

50

ル、ベンジル安息香酸塩、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、油（具体的には、綿実油、ラッカセイ油、トウモロコシ、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油、およびゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ソルビタンのポリエチレングリコールおよび脂肪酸エステル等の可溶化剤および乳化剤、ならびにこれらの混合物等の、当技術分野で一般的に使用される不活性希釈剤を含んでもよい。不活性希釈剤の他に、経口組成物は、湿潤剤、乳化剤および懸濁化剤、甘味剤、香味剤、および／または芳香剤等のアジュバントを含むことができる。非経口投与のためのある特定の実施形態において、組成物は、CREMOPHOR（登録商標）、アルコール、油、変性油、グリコール、ポリソルベート、シクロデキストリン、ポリマー、および／またはこれらの組み合わせ等の可溶化剤と混合される。

10

【0485】

注入用調製物、例えば、滅菌注入用水性または油性懸濁液は、既知の技術に従って、好適な分散化剤、湿潤剤、および／または懸濁化剤を用いて製剤化されてもよい。滅菌注入用調製物は、非毒性の非経口的に許容される希釈剤および／または溶媒中の、滅菌注入用溶液、懸濁液、および／またはエマルション、例えば、1, 3-ブタンジオール中の溶液としてのものであってもよい。用いられ得る許容されるビヒクルおよび溶媒の中には、水、リンゲル液、U. S. P.、および等張塩化ナトリウム溶液がある。無刺激の固定油が溶媒または懸濁化媒体として慣習的に用いられる。この目的のために、合成モノグリセリドまたはジグリセリドを含む、任意の無菌性の固定油が用いられ得る。オレイン酸等の脂肪酸が注入物の調製において使用され得る。

20

【0486】

注入用製剤は、例えば、細菌保持フィルターを通した濾過によって、かつ／または使用前に滅菌水または他の滅菌注射用媒体中に溶解もしくは分散させることができる滅菌固体組成物の形態で滅菌剤を組み込むことによって、滅菌することができる。

【0487】

活性成分の効果を延長するために、皮下または筋肉内注入からの活性成分の吸収を緩徐化することがしばしば望ましい。これは、水への溶解度が低い結晶質または非晶質材料の液体懸濁液の使用によって遂行されてもよい。薬物の吸収速度は次いで、その溶解速度に依存し、溶解速度が今度は、結晶サイズおよび結晶形に依存し得る。あるいは、非経口的に投与される薬物形態の遅延吸収は、薬物を油性ビヒクル中に溶解させるまたは懸濁させることによって遂行される。注入用デポー形態は、薬物のマイクロカプセルマトリックス（microencapsule matrices）を、ポリラクチド-ポリグリコライド等の生分解性ポリマー中に形成することによって作製される。薬物対ポリマーの比および用いられる特定のポリマーの性質に応じて、薬物放出の速度を制御することができる。他の生分解性ポリマーの例としては、ポリ（オルトエステル）およびポリ（無水物）が挙げられる。デポー注入用製剤は、薬物を、身体組織と適合性のリボソームまたはマイクロエマルション中に封入することによって調製される。

30

【0488】

直腸および腔内投与

直腸または腔内投与のための組成物は、典型的に坐剤であり、それは組成物を、周囲温度では固体であるが、体温では液体であり、したがって直腸または腔腔で溶解して活性成分を放出する、ココアバター、ポリエチレングリコール、または坐剤ワックス等の好適な非刺激性賦形剤と混合することによって調製することができる。

40

【0489】

経口投与

経口投与のための固体剤形には、カプセル、錠剤、丸薬、粉剤、および顆粒が含まれる。そのような固体剤形において、活性成分は、クエン酸ナトリウムもしくはリン酸二カルシウム等の少なくとも1つの不活性な薬学的に許容される賦形剤、および／または充填剤もしくは増量剤（例えば、デンプン、ラクトース、ショ糖、グルコース、マンニトール、およびケイ酸）、結合剤（例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチ

50

ン、ポリビニルピロリジノン、ショ糖、およびアカシア)、保水剤(例えば、グリセロール)、崩壊剤(例えば、寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモまたはタピオカデンプン、アルギン酸、ある特定のケイ酸塩、および炭酸ナトリウム)、溶解遅延剤(s o l u t i o n r e t a r d i n g a g e n t s)(例えば、パラフィン)、吸収促進剤(例えば、第四級アンモニウム化合物)、湿潤剤(例えば、セチルアルコールおよびモノステアリン酸グリセロール)、吸収剤(例えば、カオリンおよびベントナイト粘土)、ならびに滑沢剤(例えば、タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム)、ならびにこれらの混合物と混合される。カプセル、錠剤、および丸薬の場合、剤形は、緩衝剤も含んでもよい。

【0490】

局所または経皮投与

本明細書に記載されるように、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを含有する組成物は、局所的な投与のために製剤化されてもよい。皮膚は、それが容易に接触可能であるため、送達に理想的な標的であり得る。遺伝子発現は、皮膚に対してのみ制限され、非特異的な毒性を回避する可能性があるだけでなく、皮内の特定の層および細胞型にも制限され得る。

【0491】

送達された組成物の皮膚発現の部位は、核酸送達の経路に依存する。次の3つの経路がシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを皮膚へと送達するために考慮される：(i)局所適用(例えば、局所/局部治療および/または腫瘍学関連用途のため)、(ii)経皮注入(例えば、局所/局部治療および/または腫瘍学関連用途のため)、ならびに(iii)全身送達(例えば、皮膚領域および皮膚外領域の両方を侵す皮膚疾患の治療のため)。シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、当技術分野で既知のいくつかの異なるアプローチによって皮膚に送達することができる。非カチオン性リポソーム-DNA複合体、カチオン性リポソーム-DNA複合体の局所適用、粒子媒介性(遺伝子銃)、穿刺媒介性遺伝子形質移入、およびウイルス送達アプローチ等であるが、これらに限定されない、ほとんどの局所送達アプローチが、DNAの送達に有効であることが示されている。核酸の送達後に、遺伝子産物が、基底角化細胞、皮脂腺細胞、真皮線維芽細胞、および真皮マクロファージを含むが、これらに限定されない、いくつかの異なる皮膚細胞型において検出されている。

【0492】

一実施形態において、本発明は、本発明の方法を好都合にかつ/または有効に行うための多様なドレッシング(例えば、創傷ドレッシング)または包帯(例えば、粘着包帯)を提供する。典型的に、ドレッシングまたは包帯は、使用者が対象(複数可)の複数の治療を行うことを可能にするために、本明細書に記載の十分な量の薬学的組成物および/またはシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNAを含むことができる。

【0493】

一実施形態において、本発明は、1回を超える注入で送達されるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA組成物を提供する。

【0494】

一実施形態において、局所および/または経皮投与の前に、皮膚等の少なくとも1つの組織の領域が、透過性を増加させ得るデバイスおよび/または溶液に供されてもよい。一実施形態において、組織は、皮膚の透過性を増加させるために、研磨デバイスに供されてもよい(参照により全体が本明細書に組み込まれる、米国特許公開第20080275468号を参照のこと)。別の実施形態において、組織は、超音波強化デバイスに供されてもよい。超音波強化デバイスには、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国公開第20040236268号ならびに米国特許第6,491,657号および同第6,234,990号に記載のデバイスが含まれてもよいが、これらに限定されない。組織の透過性を向上させる方法は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、

10

20

30

40

50

米国公開第20040171980号および同第20040236268号ならびに米国特許第6,190,315号に記載されている。

【0495】

一実施形態において、デバイスを用いて、本明細書に記載の修飾mRNA製剤を送達する前に組織の透過性を増加させてもよい。皮膚の透過性は、当技術分野で既知の方法、および／または参照により全体が本明細書に組み込まれる米国特許第6,190,315号に記載の方法によって測定することができる。非限定的な例として、修飾mRNA製剤は、参照により全体が本明細書に組み込まれる米国特許第6,190,315号に記載の薬物送達方法によって送達されてもよい。

【0496】

別の非限定的な例において、組織は、透過性を増加させ得るデバイスに組織が供される前、その間および／またはその後に、局所麻酔薬の共融混合物（EMLA）クリームで処理されてもよい。Katzら（参照により全体が本明細書に組み込まれる、Anesth Analg（2004）；98：371-76）は、EMLAクリームを低エネルギーと組み合わせて使用して、表在性皮膚鎮痛の発生が低エネルギー超音波での前処理の早くも5分後に見られたことを示した。

【0497】

一実施形態において、透過性を増加させるために組織が処理される前、その間、および／またはその後に、促進剤が組織に適用されてもよい。促進剤には、輸送促進剤、物理的促進剤、および空洞形成（cavitation）促進剤が含まれるが、これらに限定されない。促進剤の非限定的な例は、参照により全体が本明細書に組み込まれる米国特許第6,190,315号に記載されている。

【0498】

一実施形態において、デバイスを用いて、免疫応答を呼び起こす物質をさらに含有し得る、本明細書に記載の修飾mRNAの製剤を送達する前に、組織の透過性を増加させてもよい。別の非限定的な例において、免疫応答を呼び起こす物質を含有する製剤は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、米国公開第20040171980号および同第20040236268号に記載の方法によって送達されてもよい。

【0499】

組成物の局所および／または経皮投与のための剤形には、軟膏、ペースト、クリーム、ローション、ゲル、泡状物質、粉末、溶液、スプレー、吸入剤、および／またはパッチが含まれてもよい。一般に、活性成分は、滅菌条件下で、必要とされ得る通りに薬学的に許容される賦形剤ならびに／または任意の必要とされる防腐剤および／もしくは緩衝液と混合される。さらに、本発明は、経皮パッチの使用を企図し、それはしばしば、身体への化合物の制御送達を提供するという追加の利点を有し得る。そのような剤形は、例えば、化合物を適正な媒体中に溶解させるおよび／または分与することによって、調製することができる。あるいは、またはさらに、速度は、速度制御膜を提供することかつ／または化合物をポリマーマトリックスおよび／もしくはゲル中に分散させることによってのいずれかで制御することができる。

【0500】

局所投与に好適な製剤には、リニメント剤、ローション等の液体および／もしくは半液体調製物、クリーム、軟膏、および／もしくはペースト等の水中油型および／もしくは油中水型エマルジョン、ならびに／または溶液および／もしくは懸濁液が含まれるが、これらに限定されない。

【0501】

局所的に投与可能な製剤は、例えば、約0.1w/w%～約10w/w%の活性成分を含み得るが、活性成分の濃度は、最大で溶媒中の活性成分の可溶性の限度まで高くてもよい。局所投与のための製剤は、本明細書に記載のさらなる成分のうちの1つ以上をさらに含んでもよい。

【0502】

透過エンハンサー

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物およびmmRNAは、様々な透過エンハンサーを用いて、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物およびmmRNAを、1つ以上の過剰増殖性疾患、障害または状態に関連する少なくとも1つの領域に送達し得る。ほとんどの薬剤は、イオン化および非イオン化形態の双方で溶液に存在する。しかし、通常は、脂質溶解性または脂溶性薬剤のみが容易に細胞膜を超える。超える膜を透過エンハンサーで処理した場合、非脂溶性薬剤でさえも、細胞膜を超え得ることが分かっている。細胞膜を超えて非脂溶性薬剤を拡散する手助けをするのに加え、透過エンハンサーは脂溶性薬剤の透過性も強化する。

【0503】

透過エンハンサーは、5つの幅の大きいカテゴリー、すなわち、界面活性剤、脂肪酸、胆汁酸塩、キレート化剤および非キレート非界面活性剤の1つに属するものとして分類され得る (Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p. 92)。透過エンハンサーの上記クラスはそれぞれ、下記でさらに詳細に説明する。例えば胆汁酸/塩と組み合わせた脂肪酸/塩というように、透過エンハンサーの組み合わせも、本発明の範囲に包含され得る。透過エンハンサーの組み合わせの他の非制限的な例として、ラウリン酸、カプリン酸およびUDCAのナトリウム塩の組み合わせが含まれる。

【0504】

界面活性剤

本発明と関わりの中で、界面活性剤（または、「表面活性剤」）は、水性溶液に溶解した際に、溶液の表面張力、または、水性溶液と他の液体との間の界面張力を低下し、粘膜経路のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物およびmmRNAの吸収を高める結果を伴う、化学物質である。胆汁酸塩および脂肪酸の加え、これらの透過エンハンサーには、例えば、ラウリル硫酸ナトリウム、ポリオキシエチレン-9-ラウリルエーテルおよびポリオキシエチレン-20-セチルエーテル (Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p. 92)；およびFC-43といった全フッ素置換エマルジョン (Takahashi et al., J. Pharm. Pharmacol., 1988, 40, 252) が含まれる。

【0505】

脂肪酸

透過エンハンサーとして作用する様々な脂肪酸およびその誘導体には、オレイン酸、ラウリン酸、カプリン酸 (n-カプリン酸)、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リノール酸、リノレン酸、ジカプレート、トリカプレート、モノオレイン (1-モノオレオイル-ラック-グリセロール、ジラウリン、カプリル酸、アラキドン酸、グリセロール1-モノカプレート、1-ドデシルアザシクロヘプタン-2-オン、アシルカルニチン、アシルコリン、そのC₁-C₁₀アルキルエステル (例えば-メチル、イソプロピルおよびt-ブチル)、およびそのモノ-、ジ-グリセリド (すなわち、オレアート、ラウレート、カプレート、ミリステート、パルミテート、ステアレート、リノレエートなど) が挙げられるが、これらに限定されない (Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p. 92; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33; El Hariri et al., J. Pharm. Pharmacol., 1992, 44, 651-654)。

【0506】

胆汁酸塩

胆汁の生物学的役割としては、脂質および脂溶性ビタミンの分散および吸収の助長が挙げられる (Brunton, Chapter 38 in: Goodman & Gilman

10

20

30

40

50

n's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Ed., Hardman et al., Eds., McGraw-Hill, New York, 1996, pp. 934-935)。様々な天然の胆汁酸塩およびその合成誘導体が、透過エンハンサーとして作用する。このように、「胆汁酸塩」という語句には、胆汁に天然に存在するいずれかの成分およびその合成誘導体のいずれもが包含される。本発明の胆汁酸塩としては、コール酸（またはその薬剂的に許容できるナトリウム塩コール酸ナトリウム）、デヒドロコール酸（デヒドロコール酸ナトリウム）、デオキシコール酸（デオキシコール酸ナトリウム）、グルコール（glucolic）酸グルコール酸（glucolate）ナトリウム、グリコール（glycholic）酸（グリココール酸ナトリウム）、グリコデオキシコール酸（グリコデオキシコール酸ナトリウム）、タウロコール酸（タウロコール酸ナトリウム）、タウロデオキシコール酸（タウロデオキシコール酸ナトリウム）、ケノデオキシコール酸（ケノデオキシコール酸ナトリウム）、ウルソデオキシコール酸（UDCA）、タウロ-24, 25-ジヒドロフシジン酸ナトリウム（STDHF）、グリコジシドロフシジン酸ナトリウムおよびポリオキシエチレン-9-ラウリルエーテル（POE）が挙げられるが、これらに限定されない（Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92; Swinyard, Chapter 39 In: Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990, pages 782-783; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33; Yamamoto et al., J. Pharm. Exp. Ther., 1992, 263, 25; Yamashita et al., J. Pharm. Sci., 1990, 79, 579-583）。

【0507】

キレート化剤

本発明との関わりで使用されるキレート化剤は、金属イオンと複合体を形成して金属イオンを溶媒から取り除き、粘膜経由のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物およびmmRNAの吸収が強化される結果を伴う化合物として定義され得る。本発明における透過エンハンサーとしての使用に関して、キレート化剤はDNase阻害剤としても役立つ追加的な効果を有し、なぜなら、多くの特徴づけられたDNAヌクレアーゼは、触媒作用のために二価金属イオンを必要とし、こうしてキレート化剤によって阻害されるからである（Jarrett, J. Chromatogr., 1993, 618, 315-339）。本発明のキレート化剤としては、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム（EDTA）、クエン酸、サリチレート（例えばサリチル酸ナトリウム、5-メトキシサリチレートおよびホモバニレート）、コラーゲンのN-アシル誘導体、ラウレス-9およびベータ-ジケトン（エナミン）のN-アミノアシル誘導体が挙げられるが、これらに限定されない（Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33; Buur et al., J. Control Rel., 1990, 14, 43-51）。

【0508】

非キレート化非界面活性剤

本明細書で使用される非キレート化非界面活性剤透過強化性化合物は、キレート化剤または界面活性剤としては取るに足らない活性を示すが、それにも関わらず、消化の粘膜経由のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物およびmmRNAの吸収を強化する化合物として定義され得る（Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990

， 7， 1－33）。このクラスの透過エンハンサーとしては、不飽和環状尿素、1－アルキル－および1－アルケニルアザシクロアルカノン誘導体（Lee et al.， Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems， 1991， page 92）；ならびに、ジクロフェナクナトリウム、インドメタシンおよびフェニルブタゾンといった非ステロイド性抗炎症剤が挙げられるが、これらに限定されない（Yamashita et al.， J. Pharm. Pharmacol.， 1987， 39， 621－626）。

【0509】

細胞レベルでシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物およびmmRNAの取り込みを強化する剤も、本発明の薬剤および他の組成物に添加してもよい。例えば、リポフェクチンといったカチオン性脂質（Junichi et al.， U. S. Pat. No. 5， 705， 188）、カチオン性グリセロール誘導体およびポリリジンといったポリカチオン性分子（Lollo et al.， PCT国際公開第WO 97／30731号）も、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物およびmmRNAの細胞の取り込みを強化することで知られている。

【0510】

他の剤を用いて投与するシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物およびmmRNAの透過を強化し得、例えば、エチレングリコールおよびプロピレングリコールといったグリコール、2－ピロールといったピロール、アゾン、リモネンおよびメントンといったテルペンが挙げられる。

【0511】

デポー投与

本明細書に記載されるように、いくつかの実施形態において、組成物は、持続放出のためのデポー中に製剤化される。一般に、具体的な器官または組織（「標的組織」）が、投与のための標的とされる。

【0512】

本発明のいくつかの態様において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、標的組織内またはその近位で空間的に保持される。標的組織（1つ以上の標的細胞を含有する）を組成物と、組成物、特に組成物の核酸構成成分（複数可）が標的組織内に実質的に保持される、つまり、組成物の少なくとも10、20、30、40、50、60、70、80、85、90、95、96、97、98、99、99.9、99.99、または99.99%超が標的組織内に保持されるような条件下で接触させることによって、組成物を哺乳類対象の標的組織に提供する方法が提供される。有利なことに、保持は、1つ以上の標的細胞に進入する、組成物中に存在する核酸の量を測定することによって決定される。例えば、投与の一定期間後に、対象に投与される核酸の少なくとも1、5、10、20、30、40、50、60、70、80、85、90、95、96、97、98、99、99.9、99.99、または99.99%超が、細胞内に存在する。例えば、哺乳類対象への筋肉内注入が、リボ核酸および形質移入試薬を含有する水性組成物を用いて行われ、組成物の保持は、筋肉細胞内に存在するリボ核酸の量を測定することによって決定される。

【0513】

本発明の態様は、標的組織（1つ以上の標的細胞を含有する）を組成物と、組成物が標的組織内に実質的に保持されるような条件下で接触させることによって、組成物を哺乳類対象の標的組織に提供する方法を対象とする。組成物は、目的とするポリペプチドが少なくとも1つの標的細胞内で産生されるように、有効量のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを含有する。組成物は一般に、細胞透過剤、および薬学的に許容される担体を含有するが、「ネイキッド」核酸（細胞透過剤または他の薬剤を含まない核酸等）もまた企図される。

【0514】

いくつかの状況において、組織内の細胞によって産生される腫瘍学関連タンパク質の量

は、望ましくは増加される。好ましくは、腫瘍学関連タンパク質産生のこの増加は、標的組織内の細胞に空間的に制限される。したがって、哺乳類対象の組織内における目的とする腫瘍学関連タンパク質の産生を増加させる方法が提供される。標的組織の既定体積内に含有される細胞の実質的な割合（％）において目的とするポリペプチドを産生するように組成物の単位量が決定されていることで特徴付けられる、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを含有する組成物が提供される。

【0515】

いくつかの実施形態において、組成物は、複数の異なるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを含み、このシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAのうちの1つ以上が目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする。任意に、組成物は、組成物の細胞内送達を補助するための細胞透過剤も含有する。標的組織の既定体積内に含有される細胞のかなりの割合（％）において目的とする腫瘍学関連ポリペプチドを産生する（一般に、既定体積に隣接した、または標的組織に遠位の組織において、目的とする腫瘍学関連ポリペプチドの大幅な産生を誘導することなく）のに必要とされる組成物の用量の決定が行われる。この決定に次いで、決定された用量が哺乳類対象の組織に直接導入される。

【0516】

一実施形態において、本発明は、1回を超える注入でまたは分割用量注入によって送達される対象となるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを提供する。

【0517】

一実施形態において、本発明は、小型の使い捨て薬物リザーバまたはパッチポンプを用いて、標的組織の付近で保持されてもよい。パッチポンプの非限定的な例としては、BD（登録商標）（Franklin Lakes, NJ）、Insulet Corporation（Bedford, MA）、SteadyMed Therapeutics（San Francisco, CA）、Medtronic（Minneapolis, MN）、UniLife（York, PA）、Valeritas（Bridgewater, NJ）、およびSpring Leaf Therapeutics（Boston, MA）によって製造および／または販売されるものが挙げられる。

【0518】

肺投与

薬学的組成物は、口腔を介した肺投与に好適な製剤中に調製され、パッケージ化され、かつ／または販売されてもよい。そのような製剤は、活性成分を含み、かつ約0.5 nm～約7 nmまたは約1 nm～約6 nmの範囲の直径を有する、乾燥粒子を含んでもよい。そのような組成物は、好適には、噴射剤の流れが粉末を分散するようにそこに向けられ得る乾燥粉末リザーバを含むデバイスを用い、かつ／または密封容器中の低沸点噴射剤中に溶解および／もしくは懸濁させた活性成分を含むデバイス等の自己噴射溶媒／粉末分与容器を用いた投与のために、乾燥粉末の形態にある。そのような粉末は、粒子の少なくとも98重量％が0.5 nm超の直径を有し、粒子の少なくとも95％（数量）が7 nm未満の直径を有する、粒子を含む。あるいは、粒子の少なくとも95重量％は、1 nm超の直径を有し、粒子の少なくとも90％（数量）は、6 nm未満の直径を有する。乾燥粉末組成物は、糖等の固体微粉末希釈剤を含んでもよく、それは単位用量形態で好都合に提供される。

【0519】

低沸点噴射剤には一般に、大気圧で65 °F（約18.3 °C）を下回る融点を有する液体噴射剤が含まれる。一般に、噴射剤は、組成物の50 w/w％～99.9 w/w％を構成し得、活性成分は、組成物の0.1 w/w％～20 w/w％を構成し得る。噴射剤は、液体非イオン性および／もしくは固体アニオン性界面活性剤ならびに／または固体希釈剤（活性成分を含む粒子と同じ規模の粒径を有し得る）等のさらなる成分をさらに含んでもよい。

【0520】

肺送達のために製剤化される薬学的組成物は、溶液および／または懸濁液の液滴の形態で活性成分を提供してもよい。そのような製剤は、任意に滅菌された、活性成分を含む、水性および／または希釈アルコール溶液および／または懸濁液として調製され、パッケージ化され、かつ／または販売されてもよく、好都合に、任意の噴霧および／または微粒化デバイスを用いて投与され得る。そのような製剤は、サッカリンナトリウム等の香味剤、揮発性油、緩衝剤、界面活性剤、および／または安息香酸メチルヒドロキシ等の防腐剤を含むが、これらに限定されない1つ以上のさらなる成分をさらに含んでもよい。この投与経路によって提供される液滴は、約0.1 nm～約200 nmの範囲の平均直径を有し得る。

10

【0521】

鼻腔内、経鼻、および頬側投与

肺送達に有用であるとして本明細書に記載される製剤は、薬学的組成物の鼻腔内送達に有用である。鼻腔内投与に好適な別の製剤は、活性成分を含み、約0.2 μm～500 μmの平均粒子を有する、粗粉である。そのような製剤は、鼻からの吸入が行われる状態で、すなわち、鼻に近接して保持された粉末の容器からの鼻孔を通じた急速な吸入によって、投与される。

【0522】

経鼻投与に好適な製剤は、例えば、最少約0.1 w/w%～最大100 w/wv%の活性成分を含んでもよく、本明細書に記載のさらなる成分のうちの1つ以上を含んでもよい。薬学的組成物は、頬側投与に好適な製剤中に調製され、パッケージ化され、かつ／または販売されてもよい。そのような製剤は、例えば、従来の方法を用いて作製される錠剤および／またはロゼンジの形態にあってもよく、また、例えば、0.1 w/w%～20 w/w%の活性成分であってもよく、残りが経口的に溶解性および／または分解性の組成物、ならびに任意に、本明細書に記載のさらなる成分のうちの1つ以上を含む。代わりに、頬側投与に好適な製剤は、活性成分を含む、粉末ならびに／またはエアロゾル化および／もしくは微粒化溶液および／もしくは懸濁液を含んでもよい。そのような粉末化、エアロゾル化、および／またはエアロゾル化製剤は、分散されるとき、約0.1 nm～約200 nmの範囲の平均粒径および／または液滴径を有し得、本明細書に記載の任意のさらなる成分のうちの1つ以上をさらに含んでもよい。

20

30

【0523】

眼内投与

薬学的組成物は、眼内投与に好適な製剤中に調製され、パッケージ化され、かつ／または販売されてもよい。そのような製剤は、例えば、水性または油性液体賦形剤中に、例えば、0.1/1.0 w/w%の活性成分の溶液および／または懸濁液を含む、点眼の形態にあってもよい。そのような液滴は、緩衝剤、塩、および／または本明細書に記載の任意のさらなる成分のうちのもう1つ以上をさらに含んでもよい。有用である他の眼内投与可能な製剤には、微小結晶形態でおよび／またはリボソーム調製物中に活性成分を含むものが含まれる。点耳および／または点眼は、本発明の範囲内にあるものとして企図される。

【0524】

ペイロード投与：検出可能な薬剤および治療剤

本明細書に記載のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、物質（「ペイロード」）の生体標的への送達、例えば、標的の検出のための検出可能な物質の送達、または治療剤の送達が所望される、いくつかの異なるシナリオにおいて使用することができる。検出方法には、インビトロ画像法およびインビボ画像法の両方、例えば、免疫組織化学、生物発光画像法（BLI）、磁気共鳴画像法（MRI）、ポジトロン放出断層撮影法（PET）、電子顕微鏡法、X線コンピュータ断層撮影法、ラマン画像法、光干渉断層撮影法、吸収画像法、熱画像法、蛍光反射画像法、蛍光顕微鏡法、蛍光分子トモグラフィー画像法、核磁気共鳴画像法、X線画像法、超音波画像法、光音響画像法、研究室アッセイ、またはタギング／染色／画像法が必要とされる任意の状況における方

40

50

法が含まれ得るが、これらに限定されない。

【0525】

シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、任意の有用な定位でリンカーおよびペイロードの両方を含むように設計することができる。例えば、2つの末端を有するリンカーを用いて、デアザアデノシンもしくはデアザグアノシンのC-7もしくはC-8位において、またはシトシンもしくはウラシルのN-3もしくはC-5位に等、一方の末端がペイロードに、および他方の末端が核酸塩基に結合される。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドは、1つを超えるペイロード（例えば、標識および転写阻害剤）、ならびに切断可能リンカーを含むことができる。一実施形態において、修飾ヌクレオチドは、切断可能リンカーの一方の末端が7-デアザアデニンのC7位に結合され、リンカーの他方の末端が阻害剤（例えば、シチジン上の核酸塩基のC5位）に結合され、標識（例えば、Cy5）がリンカーの中心に結合される、修飾7-デアザアデノシン三リン酸塩である（例えば、参照により本明細書に組み込まれる米国特許第7,994,304号の図5におけるA*pCp C5 Par g Cap l e s sの化合物1ならびに第9および10欄を参照のこと）。修飾7-デアザアデノシン三リン酸塩がコード領域へと組み込まれると、結果として生じる切断可能リンカーを有するシグナルセンサーポリヌクレオチドは、標識および阻害剤（例えば、ポリメラーゼ阻害剤）に結合される。リンカーが切断されると（例えば、切断可能ジスルフィド部分を有するリンカーを還元するための還元条件により）、標識および阻害剤が放出される。さらなるリンカーおよびペイロード（例えば、治療剤、検出可能な標識、および細胞透過性ペイロード）が本明細書に記載される。

10

20

【0526】

例えば、本明細書に記載のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、人工多能性幹細胞（iPS細胞）を再プログラミングするのに使用することができる。それによりクラスター中の総細胞と比較して、形質移入される細胞を直接追跡することができる。別の例において、リンカーを介してシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAに結合され得、また蛍光標識され得る薬物を用いて、薬物をインビボで、例えば、細胞内で追跡することができる。他の例としては、細胞内への可逆的な薬物送達におけるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの使用が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0527】

本明細書に記載のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、ペイロード、例えば、検出可能な薬剤または治療剤の、特定の細胞小器官への細胞内標的化において使用することができる。例示の細胞内標的には、高度なmRNAプロセシングのための核局在化、または阻害剤を含有するmRNAに連結された核局在化配列（NLS）が含まれ得るが、これらに限定されない。

【0528】

さらに、本明細書に記載のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを用いて、例えば、生存動物において、治療剤を細胞または組織に送達することができる。例えば、本明細書に記載のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを用いて、癌細胞を死滅させるために高極性化学療法剤を送達することができる。リンカーを介して治療剤に結合されるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、部材の透過を容易にすることにより、治療剤が細胞内に移動して細胞内標的に到達することを可能にし得る。

40

【0529】

別の例において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、切断可能リンカーを介してポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAウイルス阻害性ペプチド（VIP）に結合され得る。切断可能リンカーは、VIPおよび色素を細胞内に放出することができる。別の例において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、リンカーを介して、コレラ毒素、ジフテリア毒素、お

50

よび百日咳毒素等のいくつかの細菌毒素の作用に関与する、A D Pーリボシレートに結合され得る。これらの毒素タンパク質は、ヒト細胞において標的タンパク質を修飾するA D Pーリボシルトランスフェラーゼである。例えば、コレラ毒素A D PーリボシレートGタンパク質は、致命的な下痢をもたらす、小腸の内壁からの大量の体液分泌を引き起こすことによって、ヒト細胞を変性させる。

【0530】

いくつかの実施形態において、ペイロードは、細胞毒、放射性イオン、化学療法剤、または他の治療剤等の治療剤であってもよい。細胞毒または細胞傷害性薬剤には、細胞に有害であり得るいずれの薬剤も含まれる。例としては、タキソール、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド、ピンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラセンジオン (dihydroxyanthracinedione)、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1ーデヒドロテストステロン (dehydrotestosterone)、糖質コルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロマイシン、マイタンシノイド、例えば、マイタンシノール (参照により全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第5, 208, 020号)、ラケルマイシン (CC-1065、すべてが参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第5, 475, 092号、同第5, 585, 499号、および同第5, 846, 545号を参照のこと)、ならびにこれらの類似体または相同体が挙げられるが、これらに限定されない。放射性イオンには、ヨウ素 (例えば、ヨウ素125またはヨウ素131)、ストロンチウム89、リン、パラジウム、セシウム、イリジウム、リン酸塩、コバルト、イットリウム90、サマリウム153、およびプラセオジミウムが含まれるが、これらに限定されない。他の治療剤には、代謝拮抗薬 (例えば、メトトレキサート、6ーメルカプトプリン、6ーチオグアニン、シタラビン、5ーフルオロウラシルダカルバジン (decarbazine)、アルキル化剤 (例えば、メクロレタミン、チオテパクロラムブシル、ラケルマイシン (CC-1065)、メルファラン、カルムスチン (BSNU)、ロムスチン (CCNU)、シクロホスファミド、ブスルファン、ジプロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、およびcisージクロロジアミン白金 (II) (DDP) シスプラチン)、アントラサイクリン (例えば、ダウノルビシン (かつてはダウノマイシン) およびdオキソルビシン)、抗生物質 (例えば、ダクチノマイシン (かつてはアクチノマイシン)、ブレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン (AMC))、および抗有糸分裂剤 (例えば、ピンクリスチン、ビンブラスチン、タキソール、およびマイタンシノイド) が含まれるが、これらに限定されない。

【0531】

いくつかの実施形態において、ペイロードは、種々の有機小分子、無機化合物、ナノ粒子、酵素もしくは酵素基質、蛍光物質、発光物質 (例えば、ルミノール)、生物発光物質 (例えば、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびイクオリン)、化学発光物質、放射性物質 (例えば、 ^{18}F 、 ^{67}Ga 、 $^{81\text{m}}\text{Kr}$ 、 ^{82}Rb 、 ^{111}In 、 ^{123}I 、 ^{133}Xe 、 ^{201}Tl 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、 ^3H 、または $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (例えば、過テクネチウム酸塩 (テクネチウム酸塩 (VII)、 TcO_4^- として)、および造影剤 (例えば、金 (例えば、金ナノ粒子)、ガドリニウム (例えば、キレート化Gd)、酸化鉄 (例えば、超常磁性酸化鉄 (SPIO)、単結晶酸化鉄ナノ粒子 (MION)、および極小超常磁性酸化鉄 (USPIO)、マンガンキレート (例えば、Mn-DPDP)、硫酸バリウム、ヨード系造影剤媒体 (イオヘキソール (Iohexol))、微小気泡、またはペルフルオロ炭素) 等の検出可能な薬剤であり得る。そのような光検出可能な標識には、例えば、制限なく、4ーアセトアミドー4'ーイソチオシアン酸スチルベンー2, 2'ジスルホン酸; アクリジンおよび誘導体 (例えば、アクリジンおよびアクリジンイソチオシアネート); 5ー(2'ーアミノエチル) アミノナフタレンー1ースルホン酸 (EDANS); 4ーアミノーNー[3ービニルスルホニル] フェニル] ナフタルイミドー3, 5ジスルホン酸塩; Nー(4ーアニリノー1ーナフチル) マレイミド; アントラニルアミ

ド；BODIPY；ブリリアントイエロー；クマリンおよび誘導体（例えば、クマリン、7-アミノ-4-メチルクマリン（AMC、クマリン120）、および7-アミノ-4-トリフルオロメチルクマリン（クマリン151）；シアニン色素；シアノシン；4', 6-ジアミジノ-2-フェニルインドール（DAPI）；5' 5"-ジプロモピロガロール-スルホナフタレン（naphthalen）（プロモピロガロールレッド）；7-ジエチルアミノ-3-（4'-イソチオシアン酸フェニル）-4-メチルクマリン；ジエチレントリアミン五酢酸塩；4, 4'-ジイソチオシアン酸ジヒドロースチルベン-2, 2'-ジスルホン酸；4, 4'-ジイソチオシアン酸スチルベン-2, 2'-ジスルホン酸；5-[ジメチルアミノ]-ナフタレン-1-スルホニルクロリド（DNS、ダンシルクロリド）；4-ジメチルアミノフェニルアゾフェニル-4'-イソチオシアネート（DABITC）；エオシンおよび誘導体（例えば、エオシンおよびエオシンイソチオシアネート）；エリスロシンおよび誘導体（例えば、エリスロシンBおよびエリスロシンイソチオシアネート）；エチジウム；フルオロセインおよび誘導体（例えば、5-カルボキシフルオロセイン（FAM）、5-（4, 6-ジクロロトリアジン-2-イル）アミノフルオロセイン（DTAF）、2', 7'-ジメトキシ-4' 5'-ジクロロ-6-カルボキシフルオロセイン、フルオロセイン、フルオロセインイソチオシアネート、X-ローダミン-5-（および-6）-イソチオシアネート（QFITCまたはXRITC）、およびフルオレスカミン）；2-[2-[3-[1, 3-ジヒドロ-1, 1-ジメチル-3-（3-スルホプロピル）-2H-ベンズ[e]インドール-2-イリデン]エチリデン]-2-[4-（エトキシカルボニル）-1-ピペラジニル]-1-シクロペンテン-1-イル]エテニル]-1, 1-ジメチル-3-（3-スルホプロピル（sulforpropyl））-1H-ベンズ[e]インドリウム水酸化物、分子内塩、n, n-ジエチルエタンアミン（1:1）（IR144）との化合物；5-クロロ-2-[2-[3-（5-クロロ-3-エチル-2（3H）-ベンゾチアゾール-イリデン）エチリデン]-2-（ジフェニルアミノ）-1-シクロペンテン-1-イル]エテニル]-3-エチルベンゾチアゾリウム過塩素酸塩（IR140）；マラカイトグリーンイソチオシアネート；4-メチルウンベリフェロンオルトクレゾールフタレイン；ニトロチロシン；パラローザニリン；フェノールレッド；B-フィコエリトリン；o-フタルジアルデヒド；ピレンおよび誘導体（例えば、ピレン、酪酸ピレン、およびスクシンイミジル1-ピレン）；酪酸塩量子ドット；リアクティブレッド4（CIBACRON（商標）ブリリアントレッド3B-A）；ローダミンおよび誘導体（例えば、6-カルボキシ-X-ローダミン（ROX）、6-カルボキシローダミン（R6G）、リサミンローダミンBスルホニルクロリドローダミン（rhodarnine）（Rhod）、ローダミンB、ローダミン123、ローダミンXイソチオシアネート、スルホローダミンB、スルホローダミン101、スルホローダミン101のスルホニルクロリド誘導体（テキサスレッド）、N, N, N', N'-テトラメチル-6-カルボキシローダミン（TAMRA）テトラメチルローダミン、およびテトラメチルローダミンイソチオシアネート（TRITC）；リボフラビン；ロゾール酸；テルビウムキレート誘導体；シアニン-3（Cy3）；シアニン-5（Cy5）；シアニン-5.5（Cy5.5）、シアニン-7（Cy7）；IRD 700；IRD 800；Alexa 647；La Jolta Blue；フタロシアニン；ならびにナフタロシアニンが含まれる。

【0532】

いくつかの実施形態において、検出可能な薬剤は、活性化されると検出可能となる、検出不可能な前駆体（例えば、蛍光発生テトラジン-フルオロフォア構築物（例えば、テトラジン-BODIPY FL、テトラジン-オレゴングリーン488、またはテトラジン-BODIPY TMR-X）、または酵素により活性化可能な蛍光発生剤（例えば、PROSENSE（登録商標）（VisEn Medical））であってもよい。酵素標識組成物が使用され得るインビトロアッセイには、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、免疫沈降アッセイ、免疫蛍光法、酵素免疫アッセイ（EIA）、放射免疫アッセイ（RIA）、およびウェスタンブロット分析が含まれるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0533】

組み合わせ

シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、1つ以上の他の治療剤、予防剤、診断剤、または撮像剤と組み合わせて使用されてもよい。「と組み合わせて」とは、薬剤が同時に投与されるかつ／または一緒に送達するために製剤化される必要があることを暗示するようには意図さないが、これらの送達方法は、本開示の範囲内にある。組成物は、1つ以上の他の所望の治療薬または医療処置と並行して、その前に、またはその後に投与することができる。一般に、各薬剤は、その薬剤のために決定された用量でおよび／または時間スケジュールに基づいて投与されるであろう。いくつかの実施形態において、本開示は、薬学的、予防的、診断的、または撮像組成物を、それらの生体利用能を改善し、それらの代謝を低減および／もしくは修飾し、それらの排泄を阻害し、かつ／またはそれらの体内分布を修飾し得る薬剤と組み合わせて、送達することを包含する。非限定的な例として、シグナルセンサー核酸またはmmRNAは、癌の治療のためまたは過剰増殖性細胞を制御するための医薬品と組み合わせて使用されてもよい。参照により全体が本明細書に組み込まれる米国特許第7,964,571号において、リボポリマーとともにインターロイキン-12をコードするDNAプラスミドを含む薬学的組成物を使用し、また少なくとも1つの抗癌剤または化学療法剤を投与する、原発性または転移性固形腫瘍の治療のための併用療法が記載される。さらに、抗増殖性分子をコードする本発明のシグナルセンサー核酸およびmmRNAは、リボポリマーとともに薬学的組成物中にもあってもよい（例えば、抗増殖性分子をコードするDNAプラスミドおよびリボポリマーを含む薬学的組成物を特許請求する、参照により全体が本明細書に組み込まれる、米国公開第20110218231号を参照のこと）、それは少なくとも1つの化学療法剤または抗癌剤とともに投与され得る。

【0534】

投薬

本発明は、本発明に従う修飾mRNAおよびそれらのコードされたタンパク質または複合体をそれを必要とする対象に投与することを含む方法を提供する。核酸、タンパク質、もしくは複合体、またはその薬学的、画像化、診断的、もしくは予防的組成物は、疾患、障害、および／または状態（例えば、記憶障害の取り組みに関連した疾患、障害、および／または状態）の予防、治療、診断、または画像化に有効な任意の量および任意の投与経路を用いて対象に投与することができる。必要とされる正確な量は、対象の種、年齢、および全身状態、疾患の重症度、特定の組成物、その投与方法、その活性方法等に応じて、対象によって異なる。本発明に従う組成物は、投与を容易にし、かつ投薬量を均一にするために、典型的には、単位剤形で製剤化される。しかしながら、本発明の組成物の総1日使用量は、適切な医学的判断の範囲内で担当医によって決定されてもよいことが理解される。任意の特定の患者の特定の治療上有効、予防上有効、または適切な画像化用量レベルは、治療される障害および障害の重症度；用いられる特定の化合物の活性；用いられる特定の組成物；患者の年齢、体重、全体的な健康状態、性別、および食生活；投与時間、投与経路、および用いられる特定の化合物の排泄速度；治療の持続期間；用いられる特定の化合物と組み合わせて、またはそれと同時に使用される薬物；医学分野で周知の要素等を含む様々な要素に依存する。

【0535】

ある特定の実施形態において、本発明に従う組成物は、所望の治療的、診断的、予防的、または画像効果を得るために、1日当たり約0.0001mg/kg～約100mg/kg、約0.001mg/kg～約0.05mg/kg、約0.005mg/kg～約0.05mg/kg、約0.001mg/kg～約0.005mg/kg、約0.05mg/kg～約0.5mg/kg、約0.01mg/kg～約50mg/kg、約0.1mg/kg～約40mg/kg、約0.5mg/kg～約30mg/kg、約0.01mg/kg～約10mg/kg、約0.1mg/kg～約10mg/kg、または約1mg/kg～約25mg/kg（対象の体重）を1日1回以上送達するのに十分な投薬量レベルで

投与され得る。所望の投薬量は、1日3回、1日2回、1日1回、1日おきに、2日おきに、週1回、2週間に1回、3週間に1回、または4週間に1回送達されてもよい。ある特定の実施形態において、所望の投薬量は、複数回の投与（例えば、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、11回、12回、13回、14回以上の投与）によって送達されてもよい

【0536】

本発明に従って、分割用量レジメンでのmmRNAの投与が哺乳類対象においてより高いレベルのタンパク質を産生することが見出されている。本明細書で使用されるとき、「分割用量」とは、単回単位用量または総1日用量の2つ以上の用量、例えば、単回単位用量の2回以上の投与への分割である。本明細書で使用されるとき、「単回単位用量」とは、1回用量で／一度に／単一経路で／単一接触点で、すなわち、単回投与事象で投与される任意の治療薬の用量である。本明細書で使用されるとき、「総1日用量」は、24時間内に所与または処方される量である。これは、単回単位用量として投与されてもよい。一実施形態において、本発明のmmRNAは、分割用量で対象に投与される。mmRNAは、緩衝液のみまたは本明細書に記載の製剤中で製剤化されてもよい。

【0537】

剤形

本明細書に記載の薬学的組成物は、局所、鼻腔内、気管内、または注入用（例えば、静脈内、眼内、硝子体内、筋肉内、心臓内、腹腔内、皮下）等の本明細書に記載の剤形に製剤化され得る。

【0538】

液体剤形

非経口投与用の液体剤形には、薬学的に許容されるエマルション、マイクロエマルション、溶液、懸濁液、シロップ、および／またはエリキシルが含まれるが、これらに限定されない。活性成分に加えて、液体剤形は、水または他の溶媒、可溶化剤および乳化剤、例えば、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、油（具体的には、綿実油、ラッカセイ油、トウモロコシ、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油、およびゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ソルビタンポリエチレングリコールおよび脂肪酸エステル、ならびにこれらの混合物を含むが、これらに限定されない当技術分野で一般に使用される不活性希釈剤を含んでもよい。非経口投与についてのある特定の実施形態において、組成物は、可溶化剤、例えば、CREMOPHOR（登録商標）、アルコール、油、修飾油、グリコール、ポリソルベート、シクロデキストリン、ポリマー、および／またはこれらの組み合わせと混合されてもよい。

【0539】

注入物

注入用調製物、例えば、滅菌注入用水性または油性懸濁液は、既知の技術に従って製剤化されてもよく、好適な分散化剤、湿潤剤、および／または懸濁化剤を含んでもよい。滅菌注入用調製物は、非毒性の非経口的に許容される希釈剤および／または溶媒、例えば、1,3-ブタンジオール溶液中の滅菌注入用溶液、懸濁液、および／またはエマルションであり得る。用いられ得る許容されるビヒクルおよび溶媒の中には、水、リンガー溶液、U.S.P.、および等張性塩化ナトリウム溶液が含まれるが、これらに限定されない。無刺激固定油が溶媒または懸濁化媒体として慣習的に用いられる。この目的のために、合成モノグリセリドまたはジグリセリドを含む任意の無刺激固定油が用いられ得る。オレイン酸等の脂肪酸が注入物の調製において使用され得る。

【0540】

注入用製剤は、例えば、細菌保持フィルターを通した濾過によって、かつ／または使用前に滅菌剤を滅菌水または他の滅菌注入用媒体中に溶解もしくは分散され得る滅菌固体組成物の形態で組み込むことによって滅菌され得る。

【0541】

活性成分の効果を長引かせるために、皮下または筋肉内注入からの活性成分の吸収を遅延させることが所望され得る。これは、水への溶解度が低い結晶質または非晶質材料の液体懸濁液の使用によって遂行されてもよい。その後、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの吸収速度は、その溶解速度に依存し、次いで、結晶の大きさおよび結晶形態に依存し得る。あるいは、非経口的に投与されたシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの遅延吸収は、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを油ビヒクル中に溶解または懸濁させることによって遂行され得る。注入用デポー形態は、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAのマイクロカプセルマトリックスを、ポリラクチド-ポリグリコリド等の生分解性ポリマー中に形成することによって作製される。シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAとポリマーとの比率、および用いられる特定のポリマーの性質に応じて、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの放出速度を調節することができる。他の生分解性ポリマーの例としては、ポリ(オルトエステル)およびポリ(無水物)が挙げられるが、これらに限定されない。デポー注入用製剤は、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを、身体組織と適合性のリボソームまたはマイクロエマルジョン中に封入することによって調製されてもよい。

10

【0542】

肺

20

肺送達に有用であるとして本明細書に記載される製剤は、薬学的組成物の鼻腔内送達にも使用され得る。鼻腔内投与に好適な別の製剤は、活性成分を含み、約0.2 μm～500 μmの平均粒子を有する粗粉であってもよい。そのような製剤は、鼻からの吸入が行われる状態で、すなわち鼻に近接して保持された粉末の容器からの鼻孔を通じた急速な吸入によって投与されてもよい。

【0543】

経鼻投与に好適な製剤は、例えば、最少約0.1 w/w%～最大100 w/w%の活性成分を含んでもよく、本明細書に記載のさらなる成分のうちの1つ以上を含んでもよい。薬学的組成物は、頬側投与に好適な製剤中に調製され、パッケージ化され、かつ／または販売されてもよい。そのような製剤は、例えば、従来の方法を用いて作製される錠剤および／またはロゼンジの形態であってもよく、例えば、約0.1 w/w%～20 w/w%の活性成分を含有してもよく、この平衡物は、経口溶解性および／または分解性組成物と、任意に、本明細書に記載のさらなる成分のうちの1つ以上とを含んでもよい。代わりに、頬側投与に好適な製剤は、活性成分を含む、粉末ならびに／またはエアロゾル化および／もしくは微粒化溶液および／もしくは懸濁液を含んでもよい。そのような粉末化、エアロゾル化、および／またはエアロゾル化製剤は、分散されるとき、約0.1 nm～約200 nmの範囲の平均粒径および／または液滴径を有し得、本明細書に記載の任意のさらなる成分のうちの1つ以上をさらに含んでもよい。

30

【0544】

医薬品の製剤および／または製造における一般の考慮事項は、例えば、Remington: Science and Practice of Pharmacy 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2005において見出され得る(参照により本明細書に組み込まれる)。

40

【0545】

コーティング剤またはシェル

錠剤、糖衣錠、カプセル、丸剤、および顆粒の固体剤形を、コーティング剤およびシェル、例えば、腸溶性コーティング剤および医薬品製剤化分野で周知の他のコーティング剤で調製することができる。それらは、任意に、乳白剤を含んでもよく、それらが、腸管のある特定の部分において、任意に、遅延様式で、活性成分(複数可)のみを放出するか、またはそれを優先的に放出する組成物であり得る。使用することができる包埋組成物の例

50

としては、ポリマー物質およびワックスが挙げられる。同様の種類の固体組成物は、そのような賦形剤をラクトースまたは乳糖、ならびに高分子量ポリエチレングリコール等として使用した軟質および硬質充填ゼラチンカプセル中の充填剤として用いてもよい。

【0546】

薬学的組成物の特性

本明細書に記載の薬学的組成物は、生物学的利用能、治療域、および／または分布量のうちの1つ以上によって特徴付けられ得る。

【0547】

生物学的利用能

シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、本明細書に記載の送達剤で組成物に製剤化されるとき、本明細書に記載の送達剤を欠いた組成物と比較して、生物学的利用能の増加を呈し得る。本明細書で使用されるとき、「生物学的利用能」という用語は、哺乳動物に投与されるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの所与の量の全身利用能を指す。生物学的利用能は、化合物を哺乳動物に投与した後に、変化していない形態の化合物の曲線下面積(AUC)または最大血清または血漿濃度(C_{max})を測定することによって評価され得る。AUCは、縦座標(Y軸)に沿った化合物の血清または血漿濃度を横座標(X軸)に沿った時間に対してプロットした曲線下面積の決定である。一般に、特定の化合物のAUCは、当業者に既知の方法、および参照により本明細書に組み込まれるG. S. Banker, Modern Pharmaceuticals, Drugs and the Pharmaceutical Sciences, v. 72, Marcel Dekker, New York, Inc., 1996に記載の方法を用いて算出され得る。

【0548】

C_{max} 値は、化合物を哺乳動物に投与した後に哺乳動物の血清または血漿において達成される化合物の最大濃度である。特定の化合物の C_{max} 値は、当業者に既知の方法を用いて測定され得る。「生物学的利用能の増加」または「薬物動態の改善」という表現は、哺乳動物においてAUC、 C_{max} 、または C_{min} として測定された第1のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの全身利用能が、本明細書に記載の送達剤と共投与された場合、本明細書に記載の送達剤との共投与が行われない場合よりも高いことを意味する。いくつかの実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの生物学的利用能は、少なくとも約2%、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または約100%増加し得る。

【0549】

治療域

シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、本明細書に記載の送達剤で組成物に製剤化されるとき、本明細書に記載の送達剤を欠いた投与されたシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA組成物の治療域と比較して、投与されたシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA組成物の治療域の増加を呈し得る。本明細書で使用されるとき、「治療域」は、治療効果を誘発する可能性の高い、血漿濃度の範囲、または作用部位における治療上活性物質のレベルの範囲を指す。いくつかの実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの治療域は、本明細書に記載の送達剤と共投与されるとき、少なくとも約2%、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少

なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、または約 100 % 増加し得る。

【0550】

分布量

シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、または mmRNA は、本明細書に記載の送達剤で組成物に製剤化されるとき、本明細書に記載の送達剤を欠いた組成物と比較して、分布量 ($V_{d i s t}$) の改善、例えば、低減または標的化を呈し得る。分布量 ($V_{d i s t}$) は、体内の薬物の量を血液または血漿中の薬物の濃度と関連付ける。本明細書で使用されるとき、「分布量」という用語は、血液または血漿中の濃度と同一の濃度で体内の薬物の総量を含むよう要求される液量を指し、 $V_{d i s t}$ は、体内の薬物の量／血液または血漿中の薬物の濃度に等しい。例えば、用量 10 mg および血漿濃度 10 mg / L の場合、分布量は、1 リットルである。分布量は、薬物が血管外組織に存在する程度を反映する。大量の分布量は、血漿タンパク質結合と比較して組織構成成分に結合する化合物の傾向を反映する。臨床現場において、 $V_{d i s t}$ を用いて負荷用量を決定し、定常状態濃度を達成することができる。いくつかの実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、または mmRNA の分布量は、本明細書に記載の送達剤と共に投与されるとき、少なくとも約 2 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 % 減少し得る。

10

20

【0551】

生物学的効果

一実施形態において、動物に送達されるシグナルセンサー修飾 mRNA の生物学的効果は、動物におけるタンパク質発現を分析することによって分類され得る。タンパク質発現は、本発明のシグナルセンサー修飾 mRNA を投与した哺乳動物から収集された生体試料を分析することによって決定され得る。一実施形態において、哺乳動物に投与されるシグナルセンサー修飾 mRNA によってコードされた少なくとも 50 pg / mL の発現タンパク質が好ましくあり得る。例えば、哺乳動物に送達されるシグナルセンサー修飾 mRNA によってコードされるタンパク質の 50 ~ 200 pg / mL の発現タンパク質が、哺乳動物における治療上有効量のタンパク質と見なされ得る。

30

【0552】

質量分析による修飾核酸の検出

質量分析 (MS) は、分子のイオン変換後の分子の構造質量および分子量／濃度情報を提供することができる分析的技法である。分子は、最初に、イオン化されて正電荷または負電荷を得て、次いで、それらは、質量分析器を通過して移動して、それらの質量／電荷 (m/z) 比に従って検出器の異なる領域に到達する。

【0553】

質量分析は、分画された試料をイオン化し、かつさらなる分析のために荷電分子を作成するためのイオン源を含む質量分析計を用いて行われる。例えば、試料のイオン化は、エレクトロスプレーイオン化 (ESI)、大気圧化学イオン化 (APCI)、光イオン化、電子イオン化高速原子衝撃 (FAB) / 液体二次イオン化 (LSIMS)、マトリックス支援レーザー脱離 / イオン化 (MALDI)、電界イオン化、電界脱離、サーモスプレー / 血漿スプレーイオン化、および粒子ビームイオン化によって実施され得る。当業者であれば、イオン化方法の選択が、測定される分析物、試料の種類、検出器の種類、正モードと負モードの選択等に基づいて決定され得ることを理解する。

40

【0554】

試料がイオン化された後、その結果作成される正電荷イオンまたは負電荷イオンが分析されて、質量対電荷比 (すなわち、 m/z) を決定することができる。質量対電荷比の決定に好適な分析器には、四重極分析器、イオントラップ分析器、および飛行時間分析器が

50

含まれる。イオンは、いくつかの検出モードを用いて検出され得る。例えば、選択されたイオンは、検出され得る（すなわち、選択的イオン監視モード（SIM）を用いて）か、またはあるいは、イオンは、走査モード、例えば、多重反応監視（MRM）もしくは選択反応監視（SRM）を用いて検出され得る。

【0555】

ペプチド標準物の安定した同位体標識化希釈と連動した液体クロマトグラフィー-多重反応監視（LC-MS/MRM）が、タンパク質の検証に有効な方法であることが示されている（例えば、Keshishian et al., Mol Cell Proteomics 2009 8:2339-2349、Kuhn et al., Clin Chem 2009 55:1108-1117、Lopez et al., Clin Chem 2010 56:281-290）。バイオマーカー発見の研究で頻繁に用いられる標的化されていない質量分析とは異なり、標的化されたMS方法は、計器の完全な分析能力を複合体混合物中の何十〜何百もの選択されたペプチドに集中させるMSのペプチド配列に基づくモードである。検出および断片化を目的とするタンパク質に由来するペプチドのみに制限することによって、感受性および再現性は、発見モードのMS方法と比較して劇的に改善される。このタンパク質の質量分析に基づく多重反応監視（MRM）定量化方法は、臨床試料の迅速な標的化された多重化タンパク質発現プロファイリングを介してバイオマーカーの発見および定量化に劇的に影響を与えることができる。

【0556】

一実施形態において、本発明の少なくとも1つの修飾mRNAによってコードされる少なくとも1つのタンパク質を含有し得る生体試料は、MRM-MS法によって分析され得る。生体試料の定量化は、内部標準物として同位体標識ペプチドまたはタンパク質をさらに含むことができるが、これらに限定されない。

【0557】

本発明に従って、生体試料は、対象から得られた時点で、酵素消化に供されてもよい。本明細書で使用されるとき、「消化」という用語は、より短いペプチドに分裂することを意味する。本明細書で使用されるとき、「タンパク質を消化するために試料を処理する」という表現は、試料中のタンパク質を解体するような方法で試料を操作することを意味する。これらの酵素には、トリプシン、エンドプロテイナーゼGlu-C、およびキモトリプシンが含まれるが、これらに限定されない。一実施形態において、本発明の少なくとも1つの修飾mRNAによってコードされる少なくとも1つのタンパク質を含有し得る生体試料は、酵素を用いて消化され得る。

【0558】

一実施形態において、本発明の修飾mRNAによってコードされるタンパク質を含有し得る生体試料は、エレクトロスプレーイオン化を用いてタンパク質について分析され得る。エレクトロスプレーイオン化（ESI）質量分析（ESI-MS）は、それらが質量分析によって分析される前に溶液から気相へのイオンの移動を支援するために電氣的エネルギーを用いる。試料は、当技術分野で既知の方法を用いて分析され得る（例えば、Hoe et al., Clin Biochem Rev. 2003 24(1):3-12）。溶液に含有されるイオン種は、液滴の微粒スプレーを分散させ、溶媒を蒸発させ、高度に帯電した液滴の噴霧を生成するためにイオンを液滴から排出させることによって気相に移動し得る。高度に帯電した液滴の噴霧は、四重極質量分析器等であるが、これに限定されない、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、または少なくとも4つの質量分析器を用いて分析され得る。さらに、質量分析法には、精製ステップが含まれ得る。非限定的な例として、第1の四重極は、単一m/z比を選択するように設定されてもよく、従って、異なるm/z比を有する他の分子イオンを濾去することができ、これは、MS分析前に複雑で時間のかかる試料精製手順を排除し得る。

【0559】

一実施形態において、本発明の修飾mRNAによってコードされるタンパク質を含有し得る生体試料は、タンデムESI-MS系（例えば、MS/MS）において、タンパク質に

ついて分析され得る。非限定的な例として、液滴は、産物スキャン（もしくは娘スキャン）、前駆体スキャン（親スキャン）、中性損失、または多重反応監視を用いて分析され得る。

【0560】

一実施形態において、本発明の修飾mRNAによってコードされるタンパク質を含有し得る生体試料は、マトリックス支援レーザー脱離／イオン化（MALDI）質量分析（MALDI MS）を用いて分析され得る。MALDIは、タンパク質等の巨大分子および小分子の両方の非破壊蒸発およびイオン化を提供する。MALDI分析において、分析物は、最初に、紫外線吸収弱有機酸も含み得るが、これに限定されない高モル過剰のマトリックス化合物と共結晶化される。MALDIに用いられるマトリックスの非限定的な例としては、 α -シアノー-4-ヒドロキシ桂皮酸、3, 5-ジメトキシ-4-ヒドロキシ桂皮酸、および2, 5-ジヒドロキシ安息香酸がある。分析物-マトリックス混合物のレーザー放射は、マトリックスおよび分析物の蒸発をもたらし得る。レーザー誘起脱離は、無傷の分析物の高イオン収率を提供し、高精度の化合物の測定を可能にする。試料は、当技術分野で既知の方法を用いて分析され得る（例えばLewis, Wei and Siuzdak, Encyclopedia of Analytical Chemistry 2000: 5880-5894）。非限定的な例として、MALDI分析に用いられる質量分析器には、線形飛行時間（TOF）、TOFリフレクトロン、またはフーリエ変換質量分析器が含まれ得る。

【0561】

一実施形態において、分析物-マトリックス混合物は、乾燥液滴法を用いて形成され得る。生体試料は、マトリックスと混合されて飽和マトリックス溶液を作成し、マトリックスと試料の比率は、およそ5000:1である。その後、一定分量（およそ0.5~2.0 μ L）の飽和マトリックス溶液が、乾燥させられて分析物-マトリックス混合物を形成する。

【0562】

一実施形態において、分析物-マトリックス混合物は、薄層法を用いて形成され得る。マトリックス均質薄膜が最初に形成され、その後、その試料が適用され、マトリックスによって吸収されて分析物-マトリックス混合物を形成し得る。

【0563】

一実施形態において、分析物-マトリックス混合物は、厚層法を用いて形成され得る。マトリックス均質薄膜は、ニトロセルロースマトリックス添加剤で形成される。均一なニトロセルロースマトリックス層が得られた時点で、試料が適用され、マトリックスに吸収されて、分析物-マトリックス混合物を形成する。

【0564】

一実施形態において、分析物-マトリックス混合物は、サンドイッチ法を用いて形成され得る。マトリックス結晶の薄層が、薄層法にあるように調製され、その後、水性トリフルオロ酢酸、試料、およびマトリックスの液滴が添加される。その後、試料はマトリックスに吸収されて、分析物-マトリックス混合物を形成する。

【0565】

V. 本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAの使用
本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、およびmmRNAは、好ましい実施形態において、免疫応答および／もしくは分解経路等の有害な生体応答の回避（avoidance）もしくは回避（evasion）、発現の閾値の克服および／もしくはタンパク質産生能力の改善、改善された発現率もしくは翻訳効率、改善された薬物もしくはタンパク質半減期および／もしくはタンパク質濃度、最適化されたタンパク質局在化を提供して、組織内の安定性および／もしくはクリアランス、受容体による取り込みおよび／もしくは動態、組成物による細胞到達、翻訳機構との関わり、分泌効率（該当する場合）、血液循環への到達可能性、ならびに／または細胞の状態、機能、および／もしくは活性の調節のうちの1つ以上を改善するように設計される。

【0566】

治療薬

治療剤

本明細書に記載される、修飾核酸および修飾RNA等の本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA、ならびにそれらから翻訳されるタンパク質は、治療剤または予防剤として使用することができる。それらは、医薬において使用するために提供される。例えば、本明細書に記載のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、対象に投与することができ、このシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、インビボで翻訳されて、対象において治療的または予防的腫瘍学関連ポリペプチドを産生する。ヒトおよび他の哺乳動物における疾患または状態の診断、治療、または予防のための組成物、方法、キット、および試薬が提供される。本発明の活性治療剤は、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNA、ポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNAを含有する細胞、またはシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAから翻訳されるポリペプチドを含む。

10

【0567】

ある特定の実施形態において、抗体依存性細胞傷害性を誘導するタンパク質とともに、哺乳類対象の免疫性を後押しするタンパク質（単数または複数）をコードする翻訳可能領域を含有する、1つ以上のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを含有する、組み合わせ治療薬が本明細書に提供される。

20

【0568】

本明細書に記載のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを用いて、細胞集団内で組換えポリペプチドの翻訳を誘導する方法が、本明細書に提供される。そのような翻訳は、インビボ、エクスピボ、培養下、またはインビトロであり得る。細胞集団は、少なくとも1つのヌクレオシド修飾および組換え腫瘍学関連ポリペプチドをコードする翻訳可能領域を有するシグナルセンサー核酸を含有する有効量の組成物と接触させられる。集団は、シグナルセンサー核酸が細胞集団の1つ以上の細胞内に局在化され、組換え腫瘍学関連ポリペプチドが細胞内でシグナルセンサー核酸から翻訳されるような条件下で接触させられる。

【0569】

組成物の「有効量」は、少なくとも部分的に、標的組織、標的細胞型、投与手段、核酸の物理的特徴（例えば、サイズ、および修飾ヌクレオシドの程度）、および他の決定因子に基づいて提供される。一般に、有効量の組成物は、細胞内での効率的な、好ましくは対応する未修飾核酸を含有する組成物よりも効率的な、タンパク質産生を提供する。増加した効率は、増加した細胞形質移入（すなわち、核酸で形質移入された細胞の割合（%））、核酸からの増加したタンパク質翻訳、減少した核酸分解（例えば、修飾核酸からのタンパク質翻訳の増加した持続期間によって実証される）、または宿主細胞の低減された自然免疫応答によって実証され得る。

30

【0570】

本発明の態様は、必要性のある哺乳類対象において組換えポリペプチドのインビボ翻訳を誘導する方法を対象とする。その中で、少なくとも1つの構造修飾または化学修飾および組換えポリペプチドをコードする翻訳可能領域を有する核酸を含有する、有効量の組成物が、本明細書に記載の送達方法を用いて対象に投与される。核酸は、核酸が対象の細胞内に局在化され、組換えポリペプチドが細胞内で核酸から翻訳されるような量および他の条件下で提供される。核酸が局在化される細胞、または細胞が存在する組織は、1周期以上の核酸投与により標的とされ得る。

40

【0571】

ある特定の実施形態において、投与されるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、組換え腫瘍学関連ポリペプチドが翻訳される細胞、組織、または生物内で実質的に不在である機能的活性を提供する、1つ以上の組換えポリペプチド

50

の産生を指示する。例えば、欠損した機能的活性は、酵素的活性、構造的活性、または遺伝子調節活性の性質を有し得る。関連する実施形態において、投与されるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、組換え腫瘍学関連ポリペプチドが翻訳される細胞内に存在しているが、実質的に不全である機能的活性を増加させる（例えば、相乗的に）、1つ以上の組換え腫瘍学関連ポリペプチドの産生を指示する。

【0572】

他の実施形態において、投与されるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、組換え腫瘍学関連ポリペプチドが翻訳される細胞内で実質的に不在である1つの腫瘍学関連ポリペプチド（または複数の腫瘍学関連ポリペプチド）を置き換える、1つ以上の組換えポリペプチドの産生を指示する。そのような不在性は、コード遺伝子の遺伝子突然変異またはその調節経路に起因し得る。いくつかの実施形態において、組換え腫瘍学関連ポリペプチドは、細胞内の内因性腫瘍学関連タンパク質のレベルを所望のレベルまで増加させ、そのような増加は、内因性腫瘍学関連タンパク質のレベルを正常未満のレベルから正常なレベルへと、または正常なレベルから過正常なレベルへと至らせ得る。

【0573】

あるいは、組換え腫瘍学関連ポリペプチドは、細胞内に存在する、最上の表面上にある、または細胞から分泌される内因性タンパク質の活性に拮抗するように機能する。通常、内因性腫瘍学関連タンパク質の活性は、例えば、内因性腫瘍学関連タンパク質の突然変異が変化した活性または局在化をもたらすことに起因して、対象に有害である。さらに、組換え腫瘍学関連ポリペプチドは、細胞内に存在する、最上の表面上にある、または細胞から分泌される生体部分の活性に、直接的または間接的に拮抗する。拮抗対象の生体部分の例としては、脂質（例えば、コレステロール）、リポタンパク質（例えば、低比重リポタンパク質）、核酸、炭水化物、志賀毒素および破傷風毒素等のタンパク質毒素、またはボツリヌス毒素、コレラ毒素、およびジフテリア毒素等の小分子毒素が挙げられる。さらに、拮抗対象の生物学的分子は、細胞傷害性活性または細胞増殖抑制性活性等の望ましくない活性を示す内因性タンパク質である場合がある。

【0574】

本明細書に記載の組換え腫瘍学関連タンパク質は、細胞内、可能性としては核等の特定の区画内での局在化のために操作されてもよく、または細胞からの分泌もしくは細胞の原形質膜への移行のために操作される。

【0575】

いくつかの実施形態において、本発明に従った修飾シグナルセンサーmRNAおよびそのコードされた腫瘍学関連ポリペプチドを本明細書に記載される様々な疾患、障害、および／または状態のいずれかの治療のために使用され得る。

【0576】

腫瘍学関連の適用

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物および／またはmmRNAを、がん、がん関連および／またはがん治療関連障害、副作用および／または状態の治療、管理、特徴づけおよび／または診断に使用し得る。そのような疾患、障害および状態には、副腎皮質癌、進行癌、肛門癌、再生不良性貧血、胆管癌、膀胱癌、骨がん、骨転移、脳腫瘍、脳がん、乳癌、小児癌、原発不明のがん、キャスルマン病、子宮頸癌、大腸／直腸癌、子宮内膜癌、食道癌、ユーイング腫瘍、眼癌、卵管癌、胆嚢癌、胃腸カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍、妊娠性絨毛性疾患、ホジキン病、カボジ肉腫、腎細胞癌、喉頭および下咽頭癌、急性リンパ性白血病、急性骨髄白血病、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性骨髄単球性白血病、肝臓癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、肺カルチノイド腫瘍、皮膚のリンパ腫、悪性中皮腫、多発性骨髄腫、骨髄異形成症候群、鼻腔および副鼻腔癌、鼻咽癌、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、口腔および中咽頭癌、骨肉腫、卵巣癌、膵臓癌、陰茎癌、下垂体部腫瘍、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺癌、成人軟組織の肉腫、基底および扁平細胞皮膚癌、黒色腫、小腸癌、胃癌、

睾丸癌、胸腺癌、甲状腺癌、子宮肉腫、膣癌、外陰癌、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、ウィルムス腫瘍が含まれるが、これらに限定されない。

【0577】

別の実施形態では、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物および／またはmmRNAを、ケモブレイン(chemo brain)、末梢性ニューロパシー、疲労、鬱、吐き気および嘔吐、痛み、貧血、リンパ浮腫、感染症、がん治療によって引き起こされる二次発癌、性的副作用、妊娠能の低下または不妊症、オストミー、不眠症および脱毛といった、少なくとも1つのがん関連またはがん治療関連障害、副作用または状態の治療、管理および操作に使用され得る。

【0578】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物および／またはmmRNAを用いて、対象のがんの少なくとも1つの症状の効果を低減し得る。症状としては、脱力感、疼痛および痛み、熱、疲労、体重減少、血液凝固、血液のカルシウム量の上昇、白血球数の低下、息切れ、めまい、頭痛、色素沈着過剰、黄疸、紅斑症、そう痒症、多毛症、排便習慣の変化、膀胱機能の変化、永続的な潰瘍、口内の白い斑点、舌上の白点、異常な出血または排泄、身体部分の肥大またはこぶ、消化不良、呑み込みにくさ、いぼまたはほくろの変化、新しい皮膚の変化ならびにしつこい咳またはしわがれ声が挙げられ得るが、これらに限定しない。

【0579】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチドを、任意の数のがん細胞または正常な細胞株で調査し得る。これらの調査で有用であり得る細胞株の非制限的な例としては、MRC-5、A549、T84、NCI-H2126 [H2126]、NCI-H1688 [H1688]、WI-38、WI-38VA-13垂系統2RA、WI-26VA4、C3A [HepG2/C3A、HepG2の誘導体(ATCCHB-8065)]、THLE-3、H69AR、NCI-H292 [H292]、CFPAC-1、NTERA-2c1、D1 [NT2/D1]、DMS79、DMS53、DMS153、DMS114、MSTO-211H、SW1573 [SW-1573、SW1573]、SW1271 [SW-1271、SW1271]、SHP-77、SNU-398、SNU-449、SNU-182、SNU-475、SNU-387、SNU-423、NL20、NL20-TA [NL20T-A]、THLE-2、HBE135-E6E7、HCC827、HCC4006、NCI-H23 [H23]、NCI-H1299、NCI-H187 [H187]、NCI-H358 [H-358、H358]、NCI-H378 [H378]、NCI-H522 [H522]、NCI-H526 [H526]、NCI-H727 [H727]、NCI-H810 [H810]、NCI-H889 [H889]、NCI-H1155 [H1155]、NCI-H1404 [H1404]、NCI-N87 [N87]、NCI-H196 [H196]、NCI-H211 [H211]、NCI-H220 [H220]、NCI-H250 [H250]、NCI-H524 [H524]、NCI-H647 [H647]、NCI-H650 [H650]、NCI-H711 [H711]、NCI-H719 [H719]、NCI-H740 [H740]、NCI-H748 [H748]、NCI-H774 [H774]、NCI-H838 [H838]、NCI-H841 [H841]、NCI-H847 [H847]、NCI-H865 [H865]、NCI-H920 [H920]、NCI-H1048 [H1048]、NCI-H1092 [H1092]、NCI-H1105 [H1105]、NCI-H1184 [H1184]、NCI-H1238 [H1238]、NCI-H1341 [H1341]、NCI-H1385 [H1385]、NCI-H1417 [H1417]、NCI-H1435 [H1435]、NCI-H1436 [H1436]、NCI-H1437 [H1437]、NCI-H1522 [H1522]、NCI-H1563 [H1563]、NCI-H1568 [H1568]、NCI-H1573 [H1573]、NCI-H1581 [H1581]、NCI-H1618 [H1618]、NCI-H1623 [H1623]、NCI-H1650 [H-1650、H1650]、NCI-H16

10

20

30

40

50

51 [H1651]、NCI-H1666 [H-1666、H1666]、NCI-H1672 [H1672]、NCI-H1693 [H1693]、NCI-H1694 [H1694]、NCI-H1703 [H1703]、NCI-H1734 [H-1734、H1734]、NCI-H1755 [H1755]、NCI-H1755 [H1755]、NCI-H1770 [H1770]、NCI-H1793 [H1793]、NCI-H1836 [H1836]、NCI-H1838 [H1838]、NCI-H1869 [H1869]、NCI-H1876 [H1876]、NCI-H1882 [H1882]、NCI-H1915 [H1915]、NCI-H1930 [H1930]、NCI-H1944 [H1944]、NCI-H1975 [H-1975、H1975]、NCI-H1993 [H1993]、NCI-H2023 [H2023]、NCI-H2029 [H2029]、NCI-H2030 [H2030]、NCI-H2066 [H2066]、NCI-H2073 [H2073]、NCI-H2081 [H2081]、NCI-H2085 [H2085]、NCI-H2087 [H2087]、NCI-H2106 [H2106]、NCI-H2110 [H2110]、NCI-H2135 [H2135]、NCI-H2141 [H2141]、NCI-H2171 [H2171]、NCI-H2172 [H2172]、NCI-H2195 [H2195]、NCI-H2196 [H2196]、NCI-H2198 [H2198]、NCI-H2227 [H2227]、NCI-H2228 [H2228]、NCI-H2286 [H2286]、NCI-H2291 [H2291]、NCI-H2330 [H2330]、NCI-H2342 [H2342]、NCI-H2347 [H2347]、NCI-H2405 [H2405]、NCI-H2444 [H2444]、UMC-11、NCI-H64 [H64]、NCI-H735 [H735]、NCI-H735 [H735]、NCI-H1963 [H1963]、NCI-H2107 [H2107]、NCI-H2108 [H2108]、NCI-H2122 [H2122]、Hs573. T、Hs573. Lu、PLC/PRF/5、BEAS-2B、HepG2、Tera-1、Tera-2、NCI-H69 [H69]、NCI-H128 [H128]、ChaGo-K-1、NCI-H446 [H446]、NCI-H209 [H209]、NCI-H146 [H146]、NCI-H441 [H441]、NCI-H82 [H82]、NCI-H460 [H460]、NCI-H596 [H596]、NCI-H676B [H676B]、NCI-H345 [H345]、NCI-H820 [H820]、NCI-H520 [H520]、NCI-H661 [H661]、NCI-H510A [H510A、NCI-H510]、SK-HEP-1、A-427、Calu-1、Calu-3、Calu-6、SK-LU-1、SK-MES-1、SW900 [SW-900、SW900]、Malme-3MおよびCapan-1を包含するATCC (Manassas, VA) 由来のものが挙げられる。

10

20

30

40

50

【0580】

一実施形態において、本明細書に記載されるシグナルセンサーポリヌクレオチドを、ヒト肺腺癌で調査し得る。非制限的な例として、5-メチルシチジンおよび1-メチルシュードウリジンで完全に修飾または1-メチルシュードウリジンで完全に修飾した構成的活性型カスパーゼ3をコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドを、培養したヒト肺腺癌A549細胞に送達し得る（例えば、実施例53に説明される実験を参照）。別の非制限的な例として、5-メチルシチジンおよび1-メチルシュードウリジンで完全修飾または1-メチルシュードウリジンで完全に修飾した構成的活性型カスパーゼ6をコードするシグナルセンサーポリヌクレオチド培養したヒト肺腺癌A549細胞に送達し得る（例えば、実施例53に説明される実験を参照）。

【0581】

別の実施形態では、本明細書に記載されるシグナルセンサーポリヌクレオチドを、ヒト肝細胞癌で調査し得る。非制限的な例として、5-メチルシチジンおよび1-メチルシュードウリジンで完全に修飾したまたは1-メチルシュードウリジンで完全に修飾した構成的活性型カスパーゼ3をコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドをヒト肝細胞癌Hep3B細胞に送達し得る（例えば、実施例54に記載される実験を参照）。

【0582】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチドを動物モデルで調査し得る。非制限的な例として、動物モデルは、Fukazawaら (Anticancer Research, 2010; 30: 4193-4200) の肺癌モデルといった肺癌のためであり得、ここでは、一様にドミナントネガティブを発現するMyc (Omomy c) マウスを、KRAS突然変異ポジティブ肺癌モデルマウスと交雑させることで、類遺伝子マウスを作製する。Omomy cの存在下で、突然変異したKRASの発現によって生じるがん腫瘍が類遺伝子マウスで退縮し、Omomy cがKRAS突然変異ポジティブ肺癌の腫瘍細胞死を引き起こしたことを示す。

【0583】

非制限的な例として、ヒト肺癌異種移植もFukazawaの方法によって準備され、ここでは、背側の横腹に 4×10^6 個のA549細胞を皮下接種することで、4週齢の雌のBALB/Cヌードマウスに、ヒト肺癌異種移植を確立する (Charles River Laboratories Japan, Kanagawa, Japan)。マウスを無作為に6つのグループに割り当てる ($n=6$ /グループ)、腫瘍が約0.5cmの直径に到達後 (腫瘍接種からおおよそ6日後)。各グループのマウスの背側の横腹に、選択した投薬レジメンに関して、PBS、 5×10^{10} vpの対照物、またはシグナルセンサーポリヌクレオチドを含む $100 \mu\text{l}$ の溶液を注射する。次いで動物をじっくり観察し、生存実験または他の分析が実施される。

【0584】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチドをトランスジェニック動物モデルで調査し得る。非制限的な例として、トランスジェニック動物モデルは、LSL-KRAS^{G12D}:TRE Omomy c:CMV rtTAトリプルトランスジェニック動物であり、これは、吸入を通して投与されloxPを導入した終止コドンの切除を通して癌遺伝子の発現を誘導するCreリコンビナーゼを発現するアデノウイルスの使用に関わり、ドキシサイクリンを介して広範囲であるOmomy c発現を制御する。モデルはSoucekら (Nature, 1-5 (2008)) で報告されている。別の非制限的な例として、SoucekのマウスをLSLKRAS^{G12D} シングルトランスジェニックマウス (Jackson Laboratories) と交雑し得、MYC阻害剤Dまたは本明細書に記載される他の腫瘍学関連ポリペプチドを発現するシグナルセンサーポリヌクレオチドの吸入送達、または、そうでなければ肺送達の実験のために使用され得る。

【0585】

別の実施形態では、シグナルセンサーポリヌクレオチドをマウス内マウスモデルで調査し得、例えば、Zenderのp53-/-:c-Myc過剰発現HCCモデルであるが、これに限定されない (Cell, 2006 June 30; 125 (7): 1253-1267)。

【0586】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチドを非生殖系列遺伝子操作マウス (NGEMM) で調査し得る。非制限的な例として、マウス内マウスモデルの設計は、WTまたは腫瘍抑制因子欠失 (p53-/-といった) 129 Sv/Ev Mm ES細胞クローンから始まり；肝臓特異的画像処理のための肝臓活性化タンパク質 (LAP) プロモーター指向性テトラサイクリントランス活性化因子 (tTA) およびtetOオールシフェラーゼを導入し；結果として得られる、c-Mycおよび他の肝臓関連プログラム癌遺伝子のために使用されるLAP-tTA:tetOオールシフェラーゼクローンを凍結し；tetO駆動型癌遺伝子、例えばtetOcMycを添加し；結果として得られるLAP-tTA:tetOオールシフェラーゼ:tetO-MYCクローンを凍結し；結果として得られるESクローンをC57Bl/6胚細胞に注入して偽妊娠マザーに移植し、それによって、得られたキメラ動物は、ドキシサイクリンの除去の後、腫瘍モデルである (すなわちTet-Off)。モデルの種類は理想としては、正常な肝細胞に囲まれた、c-Myc駆動型、ルシフェラーゼ発現HCCの誘導性小結節をはっきり表す。

10

20

30

40

50

【0587】

別の実施形態では、シグナルセンサーポリヌクレオチドをマウスのH E P 3 B細胞を用いた同所H C Cモデルで調査し得る（C r o w n B i o）。

【0588】

非制限的な例として、上記の動物はいずれもM Y C阻害剤Dをコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドを調査するために使用され得る。実験には、限定はしないが、M Y C阻害剤Dのための非翻訳可能m R N Aおよびビヒクル単独送達といった陰性対照をコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドも含み得る。動物は遺伝子発現、腫瘍状態および／またはがん表現型または遺伝子型に通常関わる特徴のいずれかに関して評価され得る。

10

【0589】

別の非制限的な例として、上記の動物モデルのいずれかを用いてドミナントネガティブh T E R Tをコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドを調査し得る。実験にはまた、限定はしないがドミナントネガティブh T E R Tのための非翻訳可能m R N Aおよびビヒクル単独送達といった陰性対照をコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドが含まれ得る。動物は遺伝子発現、腫瘍状態および／またはがん表現型または遺伝子型に通常関わる特徴のいずれかに関して評価され得る。

【0590】

別の非制限的な例として、上記の動物モデルのいずれかが、ドミナントネガティブサバイビンにコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドを調査するために使用され得る。実験にはまた、限定はしないがドミナントネガティブサバイビンのための非翻訳可能m R N Aおよびビヒクル単独送達といった陰性対照をコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドが含まれ得る。動物は遺伝子発現、腫瘍状態および／またはがん表現型または遺伝子型に通常関わる特徴のいずれかに関して評価され得る。

20

【0591】

一実施形態において、細胞傷害性または細胞保護性m R N A治療薬を、限定はしないが、本明細書に記載される動物モデルの正常および／またはがん細胞といった特定の細胞に指向するために、シグナルセンサーポリヌクレオチドは少なくとも1つのm i R N A結合部位を3' U T Rに含み得る。非制限的な例として、強いアポトーシスシグナルおよび少なくとも1つのm i R-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該少なくとも1つのm i R-122a結合部位は3' U T Rに位置する。別の非制限的な例として、アポトーシス誘導因子短アイソフォーム（A I F s h）および少なくとも1つのm i R-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該少なくとも1つのm i R-122a結合部位は3' U T Rに位置する。さらに別の非制限的な例として、構成的活性型（C. A.）カスパーゼ6および少なくとも1つのm i R-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該少なくとも1つのm i R-122a結合部位は3' U T Rに位置する。別の非制限的な例として、H S V 1-t kおよび少なくとも1つのm i R-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該少なくとも1つのm i R-122a結合部位が3' U T Rに位置する。

30

40

【0592】

別の実施形態では、細胞傷害性または細胞保護性m R N A治療薬を、限定はしないが、本明細書に記載される動物モデルの正常および／またはがん細胞といった特定の細胞に指向するために、シグナルセンサーポリヌクレオチドは3つのm i R N A結合部位を3' U T Rに含み得る。非制限的な例として、強いアポトーシスシグナルおよび3つのm i R-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該3つのm i R-122a結合部位は3' U T Rに位置する。別の非制限的な例として、アポトーシス誘導因子短アイソフォーム（A I F s h）および3つのm i R-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該3つのm i R-122a結合部位は3' U T Rに位置する。さらに別の非制限的な例として、構成

50

的活性型（C．A．）カスパーゼ6および3つのmiR-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該3つのmiR-122a結合部位は3'UTRに位置する。別の非制限的な例として、HSV1-tkおよび3つのmiR-122a結合部位がシグナルセンサーポリヌクレオチドによってコードされ、ここで、当該3つのmiR-122a結合部位が3'UTRに位置する。

【0593】

がんの一般的なカテゴリー

脳がん

脳がんは、通常悪性脳腫瘍の成長に関連する、脳の組織における異常な細胞の成長である。脳腫瘍は成長して脳の付近の領域を圧迫し、これによって、脳のその部分は本来働くべくように働くことを阻害され得る。脳がんが脳外部の他の組織に転移することはめったにない。顕微鏡下でがん細胞がどれだけ異常に見えるかに基づいた腫瘍の悪性度を用いて、成長の遅い腫瘍と成長の速い腫瘍との間の違いを区別し得る。悪性度Iの腫瘍は成長が遅く、付近の組織にはめったに転移せず、正常な細胞に似た細胞を有し、腫瘍全体を外科手術で取り除くことが可能である。悪性度IIの腫瘍も成長は遅いが、付近の組織に転移し得、再発し得る。悪性度IIIの腫瘍は成長が速く、付近の組織に転移する可能性が高く、腫瘍細胞は正常な細胞とはかなり異なって見える。高悪性度である悪性度IVは成長も転移も早く、腫瘍に死細胞の領域があり得る。脳がんの症状には、起床時の頭痛または嘔吐後になくなる頭痛、頻繁に起こる吐き気および嘔吐、視覚、聴覚および発話問題、平衡感覚障害および歩行困難、片方側の身体の脱力感、異常な眠気または活動レベルの変化、人格または行動の異常な変化、発作が包含されるが、これらに限定されない。

【0594】

本発明の一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、脳がんと診断されたまたは診断され得る対象の疾患、障害および／または状態を治療し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで治療し得る。一実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、脳がんと診断されたまたは診断され得る対象の腫瘍の成長を軽減、除去または阻害し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減、除去または阻害し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、脳がんと診断されたまたは診断され得る対象の少なくとも1つのがんの症状を軽減および／または改善し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減および／または改善し得る。

【0595】

乳癌

乳癌は、限定はしないが、管および小葉といった、男女双方の胸の組織で形成される。最も一般的な乳癌の種類は、乳管癌であり、これは、管の細胞で始まる。ローブまたは小葉で始まる小葉癌は、双方の胸でしばしば発見される。珍しい種類の乳癌である炎症性乳癌では、胸が温かくなり、赤くなって腫れる。遺伝性乳癌は、全乳癌のおよそ5～10%を占め、改変された遺伝子がいくつかの民族でよく見られ、それによってその民族は乳癌に対してより高い感受性を有する。乳癌の症状として、胸部もしくは胸部付近またはわきの下領域での塊または肥厚部、胸のサイズまたは形状の変化、胸の皮膚のくぼみまたは歪み、内向きになった胸の乳首、乳首から出る母乳ではない流体、うろこ状、赤色または腫れている、胸、乳首または乳輪の皮膚、オレンジの皮膚（橙皮上皮膚（peau d'orange））のような胸のくぼみが挙げられるが、これらに限定されない。

【0596】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、乳癌と診断されたまたは診断され得る対象の疾患、障害および／または状態を治療し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポ

リヌクレオチドを投与することで治療し得る。一実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、乳癌と診断されたまたは診断され得る対象の腫瘍の成長を軽減、除去または阻害し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減、除去または阻害し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、乳癌と診断されたまたは診断され得る対象の少なくとも1つの癌の症状を軽減および／または改善し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減および／または改善し得る。

【0597】

子宮頸癌

子宮頸癌は、子宮頸部の組織で形成され、通常成長速度は遅い。子宮頸癌の原因は通常ヒトパピローマウイルス（HPV）感染と関係がある。子宮頸癌はいずれの徴候も示さないが、可能性のある症状としては、膣の出血、異常な膣分泌物、骨盤痛および性行の際の痛みが挙げられ得るが、これらに限定されない。

【0598】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、子宮頸癌と診断されたまたは診断され得る対象の疾患、障害および／または状態を治療し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで治療し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、子宮頸癌と診断されたまたは診断され得る対象の腫瘍の成長を軽減、除去または阻害し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減、除去または阻害し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、子宮頸癌と診断されたまたは診断され得る対象の少なくとも1つの癌の症状を軽減および／または改善し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減および／または改善し得る。

【0599】

食道癌

食道癌は、食道の内側を覆う組織に形成される癌である。2種類の一般的な食道癌が存在し、これらは悪性になる細胞の種類から名前が付けられる。扁平上皮癌は、食道の内側を覆う薄く平らな細胞に形成される癌である（類表皮癌とも呼ばれる）。粘液といった流体を生産および放出する腺（分泌）細胞で始まるがんは、腺癌と呼ばれる。食道癌に関連する一般的な症状としては、痛みを伴う嚥下または嚥下困難、体重の軽減、胸骨の奥の痛み、しわがれ声および咳、ならびに消化不良および胸やけが挙げられるが、これらに限定されない。

【0600】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、食道癌と診断されたまたは診断され得る対象の疾患、障害および／または状態を治療し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで治療し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、食道癌と診断されたまたは診断され得る対象の腫瘍の成長を軽減、除去または阻害し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減、除去または阻害し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、食道癌と診断されたまたは診断され得る対象の少なくとも1つの癌の症状を軽減および／または改善し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減および／または改善し得る。

【0601】

家族性がん症候群

家族性がん症候群は、対象ががんを進行する遺伝的素因を表す。全てのがんの5～10%は遺伝性であり、ある血縁者から別の血縁者に受け継がれる特定の遺伝子を通して継承される。これらの遺伝子変化の1つを遺伝した対象は、その生涯でがんを進行させる可能性がより高くあり得る。家族性がん症候群としては、毛細血管拡張性運動失調、基底細胞母斑症候群、母斑性基底細胞癌症候群、ゴーリン症候群、ベックウィズ・ヴィーデマン症候群、パート・ホッジ・デューブ症候群、ブルーム症候群、遺伝性乳癌および／または卵巣癌、カーニー複合疾患、位Ⅰ型およびⅡ型タイプ、家族性脊索腫、大腸癌、遺伝性非ポリポーシスリンチ症候群、コステロ症候群、顔皮膚骨格症候群（Facio-Scapulo-Humeral Syndrome）、カウデン病、先天性角化異常症、食道癌との肥厚化、食道癌との手掌足底角化症、ハウエル・エバンス症候群、遺伝性多発性外骨症、ファンコーニ貧血、遺伝性びまん性胃癌、消化管間質腫瘍、多発性消化管間質腫瘍、家族性上皮小体機能亢進症、急性骨髄白血病、家族性白血病、慢性リンパ球性白血病、リー・フラウメニ症候群、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、遺伝性多発性黒色腫、多彩異数性モザイク、多発性内分泌新生物Ⅰ型、ⅡA型およびⅡB型、家族性甲状腺髄様癌、家族性多発性骨髄腫、遺伝性神経芽細胞腫、神経繊維腫Ⅰ型およびⅡ型、ナイミーヘン症候群、遺伝性脾癌、遺伝性傍神経節腫、ポイツ・ジェガース症候群、家族性大腸腺腫症、家族性若年性ポリポーシス、MYH関連ポリポーシス、遺伝性前立腺癌、多発性皮膚子宮筋腫を伴う遺伝性腎細胞癌、遺伝性腎細胞癌、遺伝性乳頭状腎細胞癌、ラブドイド素因症候群（Rhabdoid Predisposition Syndrome）、ロスムンド・トムソン症候群、シンプソン・ゴラビ・ベーム症候群、家族性精巣胚細胞性腫瘍、家族性非甲状腺髄様癌、結節性硬化症、フォンヒッペル・リンダウ病、家族性ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、ウェルナー症候群、家族性ウィルムス腫瘍および色素性乾皮症といった障害が挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

【0602】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、家族性がん症候群と診断されたまたは診断され得る対象の疾患、障害および／または状態を治療し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで治療し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、家族性がん症候群と診断されたまたは診断され得る対象の腫瘍の成長を軽減、除去または阻害し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減、除去または阻害し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、家族性がん症候群と診断されたまたは診断され得る対象の少なくとも1つのがんの症状を軽減および／または改善し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減および／または改善し得る。

30

【0603】

白血病

白血病は、多くの血液細胞が生産され、血流に入るようにすることができる骨髄などの血液形成組織で始まるがんの一形態である。白血病は中枢神経系にも転移し得、脳および脊髄がんを引き起こし得る。白血病の種類には、成人急性リンパ球性、小児急性リンパ急性、成人急性骨髄性、慢性リンパ性、慢性骨髄性および毛様細胞が挙げられるが、これらに限定されない。白血病の非制限的な症状の例としては、脱力感または疲労感、熱、あざができやすい、出血しやすい、点状出血、息切れ、体重の軽減または食欲低下、骨または胃の痛み、肋骨下部の満腹感、および、首、わき、胃または鼠径部の痛みの伴わない塊が挙げられる。

40

【0604】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、白血病と診断されたまたは診断され得る対象の疾患、障害および／

50

または状態を治療し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで治療し得る。一実施形態において、本発明のシングルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、白血病と診断されたまたは診断され得る対象の腫瘍の成長を軽減、除去または阻害し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減、除去または阻害し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、白血病と診断されたまたは診断され得る対象の少なくとも1つのがんの症状を軽減および／または改善し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減および／または改善し得る。

10

【0605】

肝臓癌

肝臓癌には、肝臓の組織で形成される原発性肝臓癌と、身体の別の部分から肝臓に転移した続発性肝臓癌、または転移性肝臓癌の2種類がある。肝臓癌の可能性のある症状としては、胸郭の真下の右部分上の硬い塊、右上腹部における不快感、右肩甲骨周囲の痛み、原因不明の体重軽減、黄疸、異常な疲労感、吐き気および食欲低下が挙げられるが、これらに限定されない。

【0606】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、肝臓癌と診断されたまたは診断され得る対象の疾患、障害および／または状態を治療し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで治療し得る。一実施形態において、本発明のシングルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、肝臓癌と診断されたまたは診断され得る対象の腫瘍の成長を軽減、除去または阻害し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減、除去または阻害し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、肝臓癌と診断されたまたは診断され得る対象の少なくとも1つの癌の症状を軽減および／または改善し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減および／または改善し得る。

20

30

【0607】

肝細胞癌

c-mycタンパク質は、通常の細胞プロセスでの重要な役割を有する多機能性bHLHZip転写因子であり、ヒトのがんの大部分で異常に制御される。c-、N-およびL-Mycは、Max、MadおよびMiz-1といったパートナーと二量体化し得るファミリーメンバーである。このタンパク質は多数の示唆される転写標的のトランス活性化および抑制に関わり、近年の研究によって、Mycのために、進行するがんでトランス活性化される遺伝子の「転写増幅因子」としての役割が示された。これは、がん細胞増殖、成長、生合成代謝、リボ合成および翻訳ならびにおそらく発癌性シグナルが通らなくてはならない非重複節において、良く確立された機能を有する。

40

【0608】

MYC阻害剤D (Omomycとしても知られる) は、4つの突然変異E57T、E64I、R70Q、R71Nが導入されたヒトc-Mycオリゴマー化ドメインからなる、特殊なドミナントネガティブ90a. a. タンパク質である (Soucek et al., Oncogene, 1998; 17, 2463-2472)。重要なことに、結合および阻害能力で選択性を示す: c-Myc、N-Myc、MaxおよびMiz-1に結合する。Miz-1指向性トランス抑制を維持する一方で、E-box媒介性トランス活性化を阻害し得る。MYC阻害剤Dの治療上の可能性は、OMOMYCのトランスジェニック発現がMycERTAM誘導性角化細胞増殖を遮断したインビボで具体的に示されており (Soucek et al., CDD 2004; 11, 1038-1045);

50

トランスジェニックOmomy cは、可逆的毒性を有するLSL-KrasG12Dマウスモデルで、それぞれ、成熟肺腫瘍の形成の確立を阻害し、成熟肺腫瘍の形成の退縮を誘導し(Soucek et al., Nature 2008, 455, 679-683) ; トランスジェニックOmomy cは、腫瘍形成を阻害し、制御可能な副作用を有する膵臓神経内分泌癌のRIP1-TAG2モデルにおいて、確立された腫瘍を退縮させ、さらに、がん細胞My cに関して許容的な腫瘍微小環境の維持における役割を示し(Sodir et al., Genes and Development 2011, 25, 907-916) ; ならびに、「Omomy cはインビトロおよびインビボでKRAS突然変異性ヒト肺腺癌A549細胞の細胞死を誘導する」と報告された(Fukazawa et al., Anticancer Res, 2010, 30, 4193-4200)。

【0609】

MYC阻害剤Dの指向性発現を通じた発癌性c-My cの阻害が少なくともHCCのサブセットで効果的な療法になり得ることは理にかなっているが、HCCにおける概念の証拠はまだ実証されていない。

【0610】

いくつかの実施形態では、本発明には、肝細胞癌(HCC)の治療のためのセンサー配列の有無に関わらず、関連ポリペプチドとしてMYC阻害剤Dをコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドが含まれる。HCCの研究は、Hoshidaらが説明するHCC細胞株のサブクラスのいずれかで実施され得る(Cancer Research 2009; 69: 7385-7392)。これらは、より多いTGF-βおよびWNTシグナル伝達を有し、早期再発のより高いリスクを示し、および早期再発のより高いリスクに関連するS2細胞、my cおよびAKT発現の増加および最も高い量のアルファ胎児タンパク質を示すS2、または、幹細胞様表現型を維持するS3を包含する。S1およびS2型はまた、増加したE2F1発現および低下したp53発現を表すことが示されており ; 一方で、S2単独はインターフェロンの低下した量を示した。S1細胞株としては、SNU-387、SNU-423、SNU-449、SNU-475、SNU-182、SK-Hep1、HLE、HLFおよびFocusが挙げられ、一方で、S2細胞株としては、Huh-1、Huh-6、Huh-7、HepG2、Hep3B、Hep3B-TR、Hep40およびPLC/PRF/5細胞が挙げられる。

【0611】

肺癌

肺癌は、肺の組織、通常は、気道に並ぶ細胞に形成され、小細胞肺癌または非小細胞肺癌のいずれかとして分類される。小細胞肺癌には2種類あり、小細胞癌と、複合型小細胞癌である。非小細胞肺がんの種類としては、扁平上皮癌(癌は扁平細胞で始まる)、大細胞癌(癌は複数の種類の細胞で始まり得る)および腺癌(癌は肺泡に並ぶ細胞および粘液を作る細胞で始まる)がある。肺癌の症状としては、胸の不快感または痛み、時間が経ってもなくなるまたは悪化する咳、呼吸困難、喘鳴、唾液の血液、しわがれ声、食欲低下、理由不明の体重軽減、疲労感、嚥下困難ならびに顔および/または首の静脈の腫れが挙げられるが、これらに限定されない。

【0612】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、肺癌と診断されたまたは診断され得る対象の疾患、障害および/または状態を治療し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで治療し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、肺癌と診断されたまたは診断され得る対象の腫瘍の成長を軽減、除去または阻害し得、前記対象に目的とするポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減、除去または阻害し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、肺癌と診断されたまたは診断され得る対象の少なくとも1つの

癌の症状を軽減および／または改善し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減および／または改善し得る。

【0613】

リンパ腫

リンパ腫は、免疫系の細胞で始まるがんである。ホジキンリンパ腫を有する対象は、リード・シュテルンベルク細胞と呼ばれる細胞を有し、非ホジキンリンパ腫には、大きな群の免疫系細胞のがんが包含される。リンパ腫の例としては、頸部、わきの下または鼠径部の痛みのない腫れたリンパ節、理由不明の熱、あふれ出る寝汗、理由不明の体重軽減、皮膚のかゆみおよび疲弊が挙げられるが、これらに限定されない。

【0614】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、リンパ腫と診断されたまたは診断され得る対象の疾患、障害および／または状態を治療し得、前記対象に目的とするポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで治療し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、リンパ腫と診断されたまたは診断され得る対象の腫瘍の成長を軽減、除去または阻害し得、前記対象に目的とするポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減、除去または阻害し得る。一実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、リンパ腫と診断されたまたは診断され得る対象の少なくとも1つのがんの症状を軽減および／または改善し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減および／または改善し得る。

【0615】

卵巣癌

卵巣癌は、卵巣上皮癌（卵巣の表面で始まる）または悪性生殖細胞腫瘍（がんは卵細胞で始まる）のいずれかである、卵巣組織に形成される癌である。卵巣癌の症状としては、腹部の痛みまたは腫れ、骨盤での痛み、おなら、腹部膨満または便秘といった胃腸管の問題および月経停止後の膣出血が挙げられるが、これらに限定されない。

【0616】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、卵巣癌と診断されたまたは診断され得る対象の疾患、障害および／または状態を治療し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで治療し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはシグナルセンサーmmRNAを用いて、卵巣癌と診断されたまたは診断され得る対象の腫瘍の成長を軽減、除去または阻害し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減、除去または阻害し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはシグナルセンサーmmRNAを用いて、卵巣癌と診断されたまたは診断され得る対象の少なくとも1つの癌の症状を軽減および／または改善し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減および／または改善し得る。

【0617】

前立腺癌

前立腺の組織に形成される前立腺は、主に年配の男性が患う。前立腺癌の非制限的な例としては、弱いまたは断続的な尿の流れ、頻尿、排尿困難、排尿の際の痛みまたはひりひりした痛み、尿または精液の血液、なくならない背中、おしりまたは骨盤の痛みおよび痛みを伴う射精が挙げられるが、これらに限定されない。

【0618】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、前立腺癌と診断されたまたは診断され得る対象の疾患、障害および／または状態を治療し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単

離ポリヌクレオチドを投与することで治療し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、前立腺癌と診断されたまたは診断され得る対象の腫瘍の成長を軽減、除去または阻害し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減、除去または阻害し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、前立腺癌と診断されたまたは診断され得る対象の少なくとも1つの癌の症状を軽減および／または改善し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減および／または改善し得る。

【0619】

睾丸癌

睾丸癌は1つまたは双方の睾丸の組織に形成され、若いまたは中年男性に最も見られる。多くの睾丸癌は、生殖細胞にあり、睾丸生殖細胞腫瘍と呼ばれる。睾丸細胞腫瘍には、精上皮種および非精上皮種と呼ばれる2種類がある。睾丸癌の一般的な症状としては、いずれかの睾丸における痛みのない塊または腫れ、睾丸の感じ方における変化、下腹部または鼠径部の鈍痛、陰嚢における流体の突然の形成、および、睾丸または陰嚢における痛みまたは不快感が挙げられるが、これらに限定されない。

【0620】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、睾丸癌と診断されたまたは診断され得る対象の疾患、障害および／または状態を治療し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで治療し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、睾丸癌と診断されたまたは診断され得る対象の腫瘍の成長を軽減、除去または阻害し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離シグナルセンサーポリヌクレオチドを投与することで軽減、除去または阻害し得る。一実施形態において、本発明のポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、睾丸癌と診断されたまたは診断され得る対象の少なくとも1つの癌の症状を軽減および／または改善し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減および／または改善し得る。

【0621】

咽頭癌

咽頭癌は、咽頭の組織で形成され、鼻咽腔（鼻咽腔癌）、中咽頭（中咽頭癌）、下咽頭（咽頭下部癌）および喉頭（喉頭癌）の癌を包含する。咽頭癌の一般的な症状には、くもやらないのどの痛み、耳の痛み、頸部の塊、痛みの伴う嚥下または嚥下困難、声の変化またはしわがれ声、呼吸困難または発話困難、鼻血、難聴、耳の痛みまたは耳鳴り、頭痛、胸骨奥の鈍痛、咳および理由不明の体重軽減が挙げられるが、これらに限定されない。

【0622】

一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、咽頭癌と診断されたまたは診断され得る対象の疾患、障害および／または状態を治療し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで治療し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、咽頭癌と診断されたまたは診断され得る対象の腫瘍の成長を軽減、除去または阻害し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減、除去または阻害し得る。一実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物またはmmRNAを用いて、咽頭癌と診断されたまたは診断され得る対象の少なくとも1つの癌の症状を軽減および／または改善し得、前記対象に目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドを投与することで軽減および／または改善し得る。

【0623】

低酸素誘導因子（HIF）の阻害

低酸素誘導因子（HIF）は、酸素欠乏への細胞順応を制御する。がん細胞は、HIFに結合して有害状況での成長を持続し、こうして代謝、増殖、存続および移動性を包含する細胞再プログラムを促進する。ヒトのがん生検でのHIF過剰発現は、高転移性および脂肪率と相互関連する。

【0624】

HIFはGLUT1、GLUT3、ALDOA、ENO1、GAPDH、HK1、HK2、PFKL、PGK1、PKM2、LDHAといった代謝に関する遺伝子、IGF-2、TGFA、VEGFAといった増殖に関する遺伝子、TERT、NANOG、OCT4といった存続に関する遺伝子、ZEB1、ZEB2、SNAI2、MMP14、MMP9、AMF、MET、PTHrPといった細胞移動-湿潤に関する遺伝子を制御する（Keith, et al Nat Rev Cancer 2012; 12: 9-22）。

【0625】

一実施形態において、1つ以上のシグナルセンサーポリヌクレオチドをがん細胞に投与し、がんの不安定化を調査し得る。配列、用量、投与経路の選択は、細胞、腫瘍、組織または生物体の診断的評価によって知らされてもよく、その診断的評価としては、がんの発現プロファイリング、代謝的評価（低酸素性、アシドーシス性）、アポトーシス対存続プロファイリング、細胞周期対老化プロファイリング、免疫感受性、および／またはストロマ因子の評価が挙げられるが、これらに限定されない。

【0626】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチドは、腫瘍学関連ポリペプチド、CITED4およびSHARP1のいずれかまたは双方をコードし得る。シグナルセンサーポリヌクレオチドは次いで、いずれかまたは双方の投与ががん細胞においてHIF-1アルファのトランスクリプトームの阻害につながる箇所へ投与する。HIF-1アルファ遺伝子制御発現の抑制は、双方のポリヌクレオチドが一緒に投与される際により高い抑制を伴って投与の際に生じる。HIF-1アルファ下でのルシフェラーゼといったレポーター構築物を、van de Sluisらが開示した方法と同様の方法で使用する（J Clin Invest. 2010; 120(6): 2119-2130）。CITED4およびSHARP1双方の発現は低下したHIF-1アルファ発現および同時に付随するHIF-1アルファ制御遺伝子発現の低下につながることを知られている。シグナルセンサーポリヌクレオチドの有効性を決定するために、細胞死および／または増殖も評価し得る。

【0627】

別の実施形態では、CITED4およびSHARP1は低酸素状況でそれ自体が下方制御されるがん細胞株を用いてさらに実験を実施し得る。陽性結果は、天然タンパク質をシグナルセンサーポリヌクレオチドで置き換えた代謝プロファイル（この場合、CITED4およびSHARP1の低酸素性順応）を特異的に標的にすると、このプロファイルを有するがん細胞のトランスクリプトームおよび生存優位性に直接影響を及ぼし得ることを実証するであろう。データはさらに、低酸素状況下のシグナルセンサーポリヌクレオチド対ビヒクルの相対的影響は、正常な細胞よりもがん細胞に関してより有意であったことを示し得（すなわち、がん細胞はCITED4+SHARP1下方制御に基づいて不釣り合いな生存優位性を有する）、これによって、正常な細胞がこのタンパク質の過剰生産に対するよりも、このタンパク質の置き換えに対してがん細胞は感受性がさらに高くなることを示し得る。がん細胞は低酸素状況を経験する可能性が高く、正常酸素圧状況下の正常な細胞は、生存優位性に関してHIF-1アルファに依存していないため、CITED4およびSHARP1過剰発現に耐容性を示し得ることが理解される。

【0628】

一実施形態において、インビボ実験が、インビトロ実験の設計に従って実施され、ここで、HIF-1アルファは転移性においてその最大部分の利点を与えるようなので、動物

モデルは、がん設定で転移性を確実に示すものである。動物には、未治療または対照ポリヌクレオチドと比較して、シグナルセンサーポリヌクレオチドを投与する。動物細胞、組織および／または器官を次いで、遺伝子発現プロファイルまたはトランスクリプトームレベルでの変化に関して評価する。

【0629】

補因子間の滴定

2つの補因子間の結合親和性を滴定するために、実験を実行し得る。本明細書で使用される「滴定」という語句は、1つ以上の因子を、目的とする特性を評価するために、その溶液、シナリオまたはシリーズに体系的に（例えば、増加量で、または、1つ以上の因子が体系的に修飾される）導入する方法を指す。本実施形態では、目的とする特性は2つの補因子間の親和性である。1つの実施形態では、2つの補因子をコードする構築物を得て、および／または合成して、変異体構築物のシリーズを準備および／または合成する。変異構築物には、切断変異体（NまたはC末端ドメインのいずれかで1つ以上のアミノ酸が欠如する変異体タンパク質）、領域的欠失〔タンパク質の（1つ以上のアミノ酸を含む）内部領域が不在であるタンパク質〕を有する変異体、単一のアミノ酸置換（正常に発現されるアミノ酸が代替アミノ酸で置換される）を有する変異体、1つ以上の追加アミノ酸が、内部に、または、いずれかの末端に追加された変異体、領域的置換〔タンパク質の（1つ以上のアミノ酸を含む）内部領域が、（1つ以上のアミノ酸を含む）代替領域および／またはこれらのいずれかの組み合わせで置換されるタンパク質〕を有する変異対が包含され得る。変異体構築物はランダムに突然変異され、または、調査されている2つの補因子間の結合に必要な分子相互作用の既存の知識に基づいて、標的とする突然変異に供する。

【0630】

いくつかの実施形態では、変異体タンパク質のシリーズを、突然変異がポリペプチド鎖に沿って進行パターンを追うように設計する。そのようなシリーズによって、補因子間の相互作用の特定の側面または特長をより把握することができ得る。変異体シリーズには、例えば、それぞれ単一のアミノ酸が置換された変異体の生産が包含され、ここで、各変異体は、その突然変異したポリペプチド配列に沿って異なるアミノ酸を有する（例えば、アラニンが置換されており、それによって、各位置のアミノ酸側鎖の影響が除去される）。他の実施例では、変異体シリーズは、シリーズの変異体が増加するサイズの切断を含むように設計される。別の例では、類似した方法で翻訳後修飾（例えば、リン酸化、アセチル化、ユビキチン化、グリコシル化など）が可能なアミノ酸を変異体シリーズのポリペプチド配列に沿って突然変異させ得る。

【0631】

変異体補因子での滴定実験では、結合に有利な状況下で双方の補因子をまとめることで、2つ補因子間のベースライン親和性を確立し、補因子間の結合親和性がアッセイされる。結合親和性は、当該技術分野で知られる様々な方法のいずれかを用いて評価され得る。そのような方法としては、ウェスタンブロット分析、免疫沈澱、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、蛍光共鳴エネルギー転移（FRET）、蛍光退色後回復測定（FRAP）、蛍光極性化技術および／または表面プラズモン共鳴（SPR）系技術が挙げられるが、これらに限定されない。滴定では、一方法に従うと、1つまたは双方の補因子の変異体シリーズを2つの未突然変異補因子と組み合わせ（て、野生型と突然変異タンパク質との間の結合競合を可能にする）。異なる変異体の増加する濃度の存在下で、2つの補因子間の親和性における変化が評価され、比較および／または結合に関して競合している変異体シリーズに存在する特定の突然変異に対してプロット化する。または、シリーズの変異体補因子を、対応する未突然変異結合パートナーと別々に組み合わせ、結合親和性を評価する。野生型補因子（変異体補因子に対応）の増加する濃度が導入され、変異体補因子と対応する未突然変異結合パートナーとの間の結合における変化が評価される。結果として得られる結合曲線と他の試験変異体の結合曲線との間で比較を行う。

【0632】

いくつかの実施形態では、2つの補因子間の結合親和性の滴定を、第3の因子の増加す

る濃度の存在または不在下で評価する。そのような第3の因子は、2つの補因子間の結合の阻害剤または活性剤であり得る。上記の通り、変異体のシリーズが第3の因子のために作製され得、そのようなシリーズを滴定実験で用い、2つの補因子間の結合に対する突然変異の効果を評価し得る。

【0633】

滴定実験で得た情報を用いて、補因子間の相互作用を調節する因子をコードする修飾mRNAを設計し得る。

【0634】

いくつかの実験では、HIF1サブユニット（HIF1-α、HIF2-αおよびARNT）および／または突然変異HIF1サブユニットおよび／またはHIF1と相互作用する他のタンパク質の間の結合親和性を評価する滴定実験を実行する。滴定実験では、HIF1-α、HIF2-α、ARNTおよび／または第3の相互作用因子のうち1つ以上に関して、構築物を用いて作製される変異体シリーズを用い得る。いくつかの実施形態では、変異体シリーズはHIF1-αに関して作製される。HIF1-αおよびHIF2-αは、細胞内の正常なレベルの酸素の下で、HIFヒドロキシラーゼによってヒドロキシル化され、分解の助長および／または転写活性を遮断する。ヒドロキシル化は、酸素のレベルが低下するに伴って低下し、HIF1-αおよび／またはHIF2-αがその補因子、ARNTと結合することを可能にし、HIF-応答要素（HRE）を含む遺伝子の発現上昇につながる（Keith, B. et al., HIF1α and HIF2α: sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression. Nat Rev Cancer. 2011 Dec 15; 12(12): 9-22）。一実施形態では、HIF1-α変異体シリーズが作製され、ここでは、シリーズの突然変異がポリペプチド鎖（プロリン402、プロリン564および／またはアスパラギン803を包含するが、これらに限定されない）に沿ってヒドロキシル化部位を1つ以上漸進的に除去し、それによってHIF1-αの変異体バージョンの安定性および／または転写活性を調節する。別の実施形態では、代替補因子、HIF2-αを用いて変異体シリーズを作製する。そのような変異体シリーズは、ポリペプチド鎖（プロリン405、プロリン531および／またはアスパラギン847を包含するが、これらに限定されない）に沿ってヒドロキシル化部位を1つ以上漸進的に除去し、それによってHIF2-αの変異体バージョンの安定性および／または転写活性を調節する。別の実施形態では、ARNTとの相互作用に必要な領域を漸進的に突然変異し、それによってARNTと結合し、HIF依存性遺伝子発現を調節する改変した能力を有する変異体を作るHIF1-αおよび／またはHIF2-α変異体シリーズを作製する。別の実施形態では、他のHIFサブユニットとの相互作用に必要な領域を漸進的に突然変異し、それによって、HIFサブユニットと結合し、HIF依存性遺伝子発現を調節する改変した能力を有する変異体を作るARNT変異体シリーズを作製する。

【0635】

いくつかの実施形態では、変異体シリーズをVon Hippel-Landau腫瘍抑制タンパク質（pVHL）のために作製する。このタンパク質は、ヒドロキシル化HIF1-αおよびHIF2-αに結合し、そのユビキチン化および分解を助長する。一実施形態では、HIF1サブユニットとの相互作用に必要な領域を漸進的に突然変異し、それによって、HIF1サブユニットと結合し、HIF依存性遺伝子発現を調節する改変した能力を有する変異体を作る変異体シリーズを作製する。

【0636】

滴定実験で使用され得る転写物およびポリペプチド配列の非制限的な例は、表27（転写物）および表28（ポリペプチド）に示される。

【0637】

VI. キットおよびデバイス
キット

10

20

30

40

50

本発明は、好都合におよび／または効果的に本発明の方法を行うための多様なキットを提供する。典型的には、キットは、使用者が対象の（複数可）複数の治療を実施する、および／または複数の実験を実施することを可能にするのに十分な量および／または数の構成成分を含む。

【0638】

一態様において、本発明は、本発明の分子（シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA）を含むキットを提供する。一実施形態において、キットは、1つ以上の機能的抗体またはその機能断片を含む。

【0639】

そのキットは、翻訳可能領域を含む第1のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを含む、腫瘍学関連タンパク質産生のためのものであり得る。キットは、製剤組成物を形成するための包装および説明書ならびに／または送達剤をさらに含んでもよい。送達剤は、本明細書で開示される食塩水、緩衝液、リポイド（lipidoid）、または任意の送達剤を含んでもよい。

【0640】

一実施形態において、緩衝液には、塩化ナトリウム、塩化カルシウム、リン酸塩、および／またはEDTAが含まれてもよい。別の実施形態において、緩衝液は、食塩水、2mMカルシウムを含有する食塩水、5%ショ糖、2mMカルシウムを含有する5%ショ糖、5%マンニトール、2mMカルシウムを含有する5%マンニトール、Ringierの乳酸塩、塩化ナトリウム、2mMカルシウムを含有する塩化ナトリウムを含み得るが、これらに限定されない）。さらなる実施形態において、緩衝液は沈殿されてもよく、または凍結乾燥されてもよい。各構成成分の量は、一貫した、再現性のある高濃度食塩水または単純緩衝製剤を可能にするように変更され得る。構成成分は、一定期間にわたって、および／または多様な条件下での緩衝液中における修飾RNAの安定性を増加させるようにも変更され得る。一態様において、本発明は、標的細胞内に導入されるとき、所望の量の翻訳可能領域によってコードされる腫瘍学関連タンパク質を産生するのに有効な量で提供される、翻訳可能領域を含むシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAと、細胞の自然免疫応答を実質的に阻害するのに有効な量で提供される、阻害性核酸を含む第2のシグナルセンサーポリヌクレオチドと、包装および説明書と、を含む、腫瘍学関連タンパク質産生のためのキットを提供する。

【0641】

一態様において、本発明は、シグナルセンサーポリヌクレオチドが細胞ヌクレアーゼによる低減された分解を示す、翻訳可能領域を含むシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAと、包装および説明書と、を含む、腫瘍学関連タンパク質産生のためのキットを提供する。

【0642】

一態様において、本発明は、そのポリヌクレオチドが細胞ヌクレアーゼによる低減された分解を示す、翻訳可能領域を含むシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAと、第1の核酸の翻訳可能領域の翻訳に適した哺乳類細胞と、を含む、腫瘍学関連タンパク質産生のためのキットを提供する。

【0643】

デバイス

本発明は、目的とするポリペプチドをコードするシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを組み込み得るデバイスを提供する。これらのデバイスは、安定した製剤中に、ヒト患者等のそれを必要とする対象に即時に送達されることができる製剤中にシグナルセンサーポリヌクレオチドを合成するための試薬を含有する。

【0644】

いくつかの実施形態において、デバイスは、自己完結型であり、任意に、生成されたシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの合成および／または分析のための指示を得るための無線遠隔通信が可能である。デバイスは、少なくとも1つ

のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNA、および好ましくは無制限の異なるシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAのモバイル合成が可能である。ある特定の実施形態において、デバイスは、1または少数の個体によって輸送されることができる。他の実施形態において、デバイスは、卓上または机に合うように調整される。他の実施形態において、デバイスは、スーツケース、バックパック、または同様の大きさの対象に収まるように調整される。別の実施形態において、デバイスは、ポイントオブケアまたは手持ち式デバイスであってもよい。さらなる実施形態において、デバイスは、乗用車、運搬車、もしくは救急車等の自動車、または戦車もしくは兵員輸送車等の軍用車両に収まるように調整される。目的とする腫瘍学関連ポリペプチドをコードする修飾シグナルセンサーmRNA生成するために必要な情報は、デバイスに存在するコンピュータ可読媒体内に存在する。

10

【0645】

一実施形態において、デバイスは、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAの形態で投与された腫瘍学関連タンパク質のレベルを評価するために使用され得る。デバイスは、血液、尿、または他の生物流体(biofluidic)検査を含んでもよい。

【0646】

いくつかの実施形態において、デバイスは、シグナルセンサー核酸および腫瘍学関連ポリペプチド配列であり得る核酸およびポリペプチド配列のデータベースを用いて通信(例えば、無線通信)が可能である。デバイスは、1つ以上の試料容器を挿入するための少なくとも1つの試料ブロックを含む。そのような試料容器は、テンプレートDNA、ヌクレオチド、酵素、緩衝剤、および他の試薬等の任意の数の材料の液体または他の形態を受け入れることが可能である。試料容器は、試料ブロックとの接触によって加熱または冷却されることも可能である。試料ブロックは、一般的に、少なくとも1つの試料ブロックのための1つ以上の電子制御装置を有するデバイス基部と通信している。試料ブロックは、好ましくは、試料容器およびその構成要素を約-20℃~+100℃を超える温度に加熱および/または冷却することができるような加熱モジュールである、加熱モジュールを含む。デバイス基部は、電池または外部電圧源等の電圧源と通信している。デバイスは、RNA合成のための材料を貯蔵および分配するための手段も含む。

20

【0647】

任意に、試料ブロックは、合成された核酸を分離するためのモジュールを含む。あるいは、デバイスは、試料ブロックに作動可能に連結される分離モジュールを含む。好ましくは、デバイスは、合成された核酸を分析するための手段を含む。そのような分析には、配列同一性(ハイブリダイゼーション等によって実証される)、望ましくない配列の不在、合成されたmRNAの完全性の測定(分光光度法と組み合わせた微小流体粘度測定によるもの等)、ならびに修飾RNAの濃度および/または効力(分光光度法によるもの等)が挙げられる。

30

【0648】

ある特定の実施形態において、デバイスは、対象から得られた生物材料中に存在する病原体の検出のための手段、例えば、微生物同定用のIBIS PLEX-IDシステム(Abbott, Abbott Park, IL)と組み合わせられる。

40

【0649】

本明細書に記載の薬学的組成物を皮内送達する際に用いるのに適したデバイスには、米国特許第4,886,499号、同第5,190,521号、同第5,328,483号、同第5,527,288号、同第4,270,537号、同第5,015,235号、同第5,141,496号、および同第5,417,662号に記載のデバイス等の短針デバイスが挙げられる。皮内組成物は、PCT出願第WO99/34850号に記載のデバイスおよびその機能的等価物等の皮膚の中への針の有効な貫通長さを制限するデバイスによって投与され得る。液体ジェット式注入器を介して、および/または角質層に穴を開ける針を介して、液体組成物を真皮に送達し、真皮に到達するジェットを生じるジェット

50

式注入デバイスが好適である。ジェット式注入デバイスは、例えば、米国特許第5,480,381号、同第5,599,302号、同第5,334,144号、同第5,993,412号、同第5,649,912号、同第5,569,189号、同第5,704,911号、同第5,383,851号、同第5,893,397号、同第5,466,220号、同第5,339,163号、同第5,312,335号、同第5,503,627号、同第5,064,413号、同第5,520,639号、同第4,596,556号、同第4,790,824号、同第4,941,880号、同第4,940,460号、ならびにPCT出願第WO97/37705号および同第WO97/13537号に記載されている。圧縮ガスを用いて、粉末形態にあるワクチンを加速させ、皮膚の外層を通して真皮に到達させる弾道粉末／粒子送達デバイスが、好適である。あるいは、またはさらに、従来のシリンジを皮内投与の古典的なマントゥー法で用いることができる。

10

【0650】

いくつかの実施形態において、デバイスは、ポンプであってもよく、または血液脳関門を横断する本発明の化合物または組成物の投与用のカテーテルを含む。そのようなデバイスには、加圧嗅覚送達デバイス、イオン泳動デバイス、多層微小流体デバイス等が挙げられるが、これらに限定されない。そのようなデバイスは、携帯型または固定型であってもよい。それらは、身体に埋め込み可能であるか、または身体に外的に係留されるか、またはそれらの組み合わせであってもよい。

【0651】

投与用デバイスを用いて、本発明で教示される単回、複数回、または分割投薬レジメンに従って、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAを送達してもよい。そのようなデバイスは、以下に記載される。

20

【0652】

細胞、器官、および組織への複数回投与のための当技術分野で既知の方法およびデバイスは、本発明の実施形態として本明細書で開示される方法および組成物とともに使用されることが企図される。これらには、例えば、複数の針、例えば、ルーメンまたはカテーテルを用いるハイブリッドデバイスならびに熱、電流、または放射線駆動機構を利用するデバイスを有する方法およびデバイスが挙げられる。

【0653】

本発明に従って、これらの複数回投与デバイスを利用して、本明細書で企図される単回用量、複数回用量、または分割された用量が送達されてもよい。

30

【0654】

治療剤を固体組織に送達するための方法は、Bahramiらによって説明されており、例えば、米国特許公開第20110230839号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Bahramiによると、一連の針はデバイス内に組み込まれ、各針の長さに沿ってその固体組織内の任意の箇所を実質的に同量の流体を送達する。

【0655】

生物組織を横断して生物材料を送達するためのデバイスは、Kodguleらによって説明されており、例えば、米国特許公開第20110172610号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Kodguleによると、1つ以上の金属から作製され、かつ約200ミクロン～約350ミクロンの外径および少なくとも100ミクロンの長さを有する複数の中空型マイクロニードルがデバイス内に組み込まれ、ペプチド、タンパク質、炭水化物、核酸分子、脂質、および他の薬学的に有効な成分またはそれらの組み合わせを送達する。

40

【0656】

治療剤の組織への送達のための送達プローブは、Gundayらによって説明されており、例えば、米国特許公開第20110270184号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Gundayによると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、デバイスは、付加されたカプセルを作動位置と非作動位置との間で移

50

動させ、その針を通してカプセルの外に薬剤を出させる。

【0657】

複数回注入医療器具が、Assafによって説明されており、例えば、米国特許公開第20110218497号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Assafによると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、デバイスは、その針のうちの1つ以上に接続するチャンバと、各注入の後、連続的にそのチャンバに医療用流体を補充する手段と、を有する。

【0658】

一実施形態において、シグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、少なくとも3つの針を介して皮下にまたは筋肉内に、同時または60分以内に3つの異なる、任意に隣接した部位へ投与される（例えば、同時または60分以内に4、5、6、7、8、9、または10個の部位への投与）。分割された用量は、各々が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許公開第20110230839号および同第20110218497号に記載のデバイスを用いて、同時に隣接した組織に投与され得る。

【0659】

物質を患者の身体に注入するための少なくとも部分的に埋め込み可能なシステム、具体的には陰茎勃起刺激システムが、Forseilによって説明されており、例えば、米国特許公開第20110196198号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Forseilによると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、デバイスは、患者の左および右の陰核海綿体に隣接する1つ以上の筐体とともに埋め込まれる。また、針を通して薬物を供給するためにリザーバおよびポンプも埋め込まれる。

【0660】

治療的有効量の鉄分の経皮送達のための方法が、Berensonによって説明されており、例えば、米国特許公開第20100130910号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Berensonによると、複数の針を用いて、イオン泳動パッチ上のイオン性鉄分の経皮送達を強化するために角質層内に複数のマイクロチャンネルを作製することができる。

【0661】

生物組織を横断する生物材料の送達のための方法が、Kodguleらによって説明されており、例えば、米国特許公開第20110196308号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Kodguleによると、治療的活性成分を含む複数の生分解性マイクロニードルがデバイスに組み込まれ、タンパク質、炭水化物、核酸分子、脂質、および他の薬学的活性成分、またはそれらの組み合わせを送達する。

【0662】

ボツリヌス毒素組成物を含む経皮パッチが、Donovanによって説明されており、例えば、米国特許公開第20080220020号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Donovanによると、複数の針がパッチ内に組み込まれ、血液を破裂させることなく、皮膚の角質層を通して突出するその針を通してボツリヌス毒素を角質層下に送達する。

【0663】

およそ0.2～15mLの液体製剤を保持することができる小さい使い捨ての薬物リザーバ、またはパッチポンプを皮膚上に配置し、製剤を細い針（例えば、26～34ゲージ）を用いて連続的に皮下に送達することができる。非限定的な例として、パッチポンプは、30～34ゲージ針を有するばね式の50mm×76mm×20mm（BD（商標）、Microinfuser, Franklin Lakes NJ）、インスリン等の薬物送達に使用される2mLリザーバを有する41mm×62mm×17mm（OMNIPOD（登録商標）、Insulet Corporation Bedford, MA）、または0.5～10mLリザーバを有する43～60mm直径、10mm厚（PATC

10

20

30

40

50

HPUMP（登録商標），SteadyMed Therapeutics，San Francisco，CA）であってもよい。さらに、パッチポンプは、電池式および／または充電式であり得る。

【0664】

低温治療の箇所への活性剤の投与用の凍結探針が、Toubiaによって説明されており、例えば、米国特許公開第20080140061号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Toubiaによると、複数の針がプローブ内に組み込まれ、プローブは、チャンバ内への活性剤を受容し、薬剤を組織に投与する。

【0665】

炎症を治療するか、もしくは予防し、または健常な関節を促進するための方法が、Stockらによって説明されており、例えば、米国特許公開第20090155186号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Stockによると、複数の針がデバイスに組み込まれ、シグナル伝達調節因子化合物を含有する組成物を投与する。

【0666】

多部位注入システムが、Kimmelらによって説明されており、例えば、米国特許公開第20100256594号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Kimmelによると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、その針を通して薬物を角質層内に送達する。

【0667】

インターフェロンを皮内区画に送達するための方法が、Deckerらによって説明されており、例えば、米国特許公開第20050181033号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Deckerによると、0～1mmの露出された高さを持つ放出口を有する複数の針がデバイス内に組み込まれ、それが0.3mm～2mmの深さで物質を送達することによって、薬物動態およびバイオアベイラビリティを改善する。

【0668】

遺伝子、酵素、および生物薬剤を組織細胞に送達するための方法が、Desaiによって説明されており、例えば、米国特許公開第20030073908号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Desaiによると、複数の針が体内に挿入されるデバイス内に組み込まれ、その針を通して薬物流体を送達する。

【0669】

線維芽細胞を用いて不整脈を治療するための方法が、Leeらによって説明されており、例えば、米国特許公開第20040005295号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Leeによると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、線維芽細胞を組織の局所的領域に送達する。

【0670】

磁力制御されたポンプ使用して脳腫瘍を治療するための方法が、Shacharらによって説明されており、例えば、米国特許第7799012号（方法）および同第7799016号（デバイス）に教示され、それらの内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Shacharによると、複数の針がポンプに組み込まれ、ポンプは、制御された速度でその針を通して薬物治療剤を押す。

【0671】

雌哺乳類における膀胱の機能的障害を治療する方法が、Versiらによって説明されており、例えば、米国特許第8,029,496号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Versiによると、一連のマイクロニードルがデバイス内に組み込まれ、その針を通して直接膀胱の膀胱三角部内に治療剤を送達する。

【0672】

マイクロニードル経皮輸送デバイスが、Angelらによって説明されており、例えば、米国特許第7, 364, 568号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Angelによると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、デバイスは、異なる方向から表面内に挿入されるその針を通して物質を体表内に輸送する。マイクロニードル経皮輸送デバイスは、中実型マイクロニードルシステムまたは中空型マイクロニードルシステムであってもよい。非限定的な例として、中実型マイクロニードルシステムは、薬物で被覆された約150~700 μm の高さの、 cm^2 当たり300~1500の中実マイクロニードルを伴う最大0.5mgの容量を有し得る。マイクロニードルは、角質層に透過し、短い持続期間（例えば、20秒間~15分間）、皮膚に残存する。別の例において、中空型マイクロニードルシステムは、最大3mLの容量を有し、およそ950 μm の高さである cm^2 当たり15~20マイクロニードルを用いて液体製剤を送達する。マイクロニードルは皮膚に透過し、液体製剤がデバイスから皮膚内に流れることを可能にする。中空型マイクロニードルシステムは、製剤体積および粘度に応じて、1~30分間で消耗し得る。

【0673】

皮下輸注用デバイスが、Daltonらによって説明されており、例えば、米国特許第7, 150, 726号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Daltonによると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、その針を通して流体を皮下組織に送達する。

【0674】

マイクロカニューレを通したワクチンおよび遺伝子治療剤の皮内送達用デバイスおよび方法が、Miksztalらによって説明されており、例えば、米国特許第7, 473, 247号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Miksztalによると、少なくとも1つの中空型マイクロニードルがデバイス内に組み込まれ、0.025mm~2mmの深さでワクチンを対象の皮膚に送達する。

【0675】

インスリンを送達する方法が、Pettisらによって説明されており、例えば、米国特許第7, 722, 595号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Pettisによると、2つの針はデバイス内に組み込まれ、第1の針はインスリンを皮内区画に送達するように2.5mm未満の深さで、第2の針はインスリンを皮内区画に送達するように2.5mm超えかつ5.0mm未満の深さで、両方の針は基本的に同時に皮膚内に挿入される。

【0676】

吸引下での皮膚注入送達が、Kochambaらによって説明されており、例えば、米国特許第6, 896, 666号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Kochambaによると、互いに比較的に隣接した複数の針がデバイス内に組み込まれ、皮膚層の下に流体を注入する。

【0677】

皮膚を通して物質を取り除くか、または送達するためのデバイスが、Downらによって説明されており、例えば、米国特許第6, 607, 513号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Downによると、複数の皮膚透過メンバーがデバイス内に組み込まれ、約100ミクロンから約2000ミクロンの長さを有し、約30~50ゲージである。

【0678】

物質を皮膚に送達するためのデバイスが、Palmerらによって説明されており、例えば、米国特許第6, 537, 242号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Palmerによると、一連のマイクロニードルがデバイス内に組み込まれ、その針と皮膚との接触を強化するために引っ張りアセンブリを使用し、物質のより均一な送達をもたらす。

【0679】

局所薬物送達のための灌流デバイスが、Z a m o y s k iによって説明されており、例えば、米国特許第6, 468, 247号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Z a m o y s k iによると、複数の皮下針が、皮下注射器が後退するときに皮下注射器の内容物を組織内に注入するデバイス内に組み込まれる。

【0680】

マイクロニードルおよびヒト皮膚との間の相互作用を改善することによる組織を横断する薬物および生体分子の増強された輸送のための方法が、P r a u s n i t zらによって説明されており、例えば、米国特許第6, 743, 211号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。P r a u s n i t zによると、複数のマイクロニードルがデバイス内に組み込まれ、デバイスは、そこにマイクロニードルが適用される、より強固で、より変形しにくい表面を示すことができる。

10

【0681】

医薬剤の器官内投与のためのデバイスが、T i n gらによって説明されており、例えば、米国特許第6, 077, 251号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。T i n gによると、増強投与のための側面開口部を有する複数の針がデバイス内に組み込まれ、デバイスは、その針を針チャンバからおよび針チャンバ中へ伸長および後退することによって医薬剤をリザーバからその針の中へ押し進め、その医薬剤を標的器官に注入する。

【0682】

複数の持針器および皮下多重チャネル輸注ポートが、B r o w nによって説明されており、例えば、米国特許第4, 695, 273号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。B r o w nによると、持針器上の複数の針が輸注ポートの中隔を通して挿入され、その輸注ポート内の単離されたチャンバと連通する。

20

【0683】

二重皮下シリンジが、H o r nによって説明されており、例えば、米国特許第3, 552, 394号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。H o r nによると、デバイス内に組み込まれる2つの針が、68mm未満の間隔で離間され、異なるスタイルおよび長さであってもよく、このため注入が異なる深さで行われることを可能にする。

【0684】

複数の針および複数の流体区画を有するシリンジが、H e r s h b e r gによって説明されており、例えば、米国特許第3, 572, 336号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。H e r s h b e r gによると、複数の針が複数の流体区画を有するシリンジ内に組み込まれ、1つの注入に混合することができない相性の悪い薬物を同時に投与することができる。

30

【0685】

流体の皮内の注入のための外科用器具が、E l i s c uらによって説明されており、例えば、米国特許第2, 588, 623号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。E l i s c uによると、複数の針がその器具内に組み込まれ、流体を皮内により幅広い分散で注入する。

40

【0686】

複数の乳房内の乳管への物質の同時送達のための装置が、H u n gによって説明されており、例えば、欧州特許第1818017号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。H u n gによると、複数のルーメンがデバイス内に組み込まれ、乳管網のオリフィスを通して挿入し、流体を乳管網に送達する。

【0687】

心臓または他の器官の組織への薬物の導入のためのカテーテルが、T k e b u c h a v aによって説明されており、例えば、国際公開第W O 2 0 0 6 1 3 8 1 0 9号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。T k e b u c h a v aによると、平坦な軌道で器官壁に進入する2つの湾曲針が組み込まれる。

50

【0688】

医薬剤を送達するためのデバイスが、M c k a y らによって説明されており、例えば、国際公開第W O 2 0 0 6 1 1 8 8 0 4 号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。M c k a y によると、各針上に複数のオリフィスを有する複数の針がデバイス内に組み込まれ、脊髓円板の内部円板空間等の組織への局部送達を容易にする。

【0689】

哺乳類皮膚内の皮内空間内に免疫調節物質を直接送達するための方法が、P e t t i s によって説明されており、例えば、国際公開第W O 2 0 0 4 0 2 0 0 1 4 号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。P e t t i s によると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、針を通して物質を0.3mm～2mmの深さに送達する。

10

【0690】

全身性吸収および改善された薬物動態のための皮膚の少なくとも2つの区画内へ物質を投与するための方法およびデバイスが、P e t t i s らによって説明されており、例えば、国際公開第W O 2 0 0 3 0 9 4 9 9 5 号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。P e t t i s によると、約300μm～約5mmの長さを有する複数の針がデバイス内に組み込まれ、皮内および皮下組織区画へ同時に送達する。

【0691】

針およびローラーを有する薬物送達デバイスが、Z i m m e r m a n らによって説明されており、例えば、国際公開第W O 2 0 1 2 0 0 6 2 5 9 号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Z i m m e r m a n によると、ローラー内に位置する複数の中空針がデバイス内に組み込まれ、ローラーが回転すると、針を通してリザーバ内の内容物を送達する。

20

【0692】

カテーテルおよび／またはルーメンを利用する方法およびデバイス

カテーテルおよびルーメンを使用する方法およびデバイスを用いて、単回、複数回、または分割された投薬スケジュールにおいて本発明のmmRNAを投与することができる。そのような方法およびデバイスを、以下に記載する。

30

【0693】

骨格筋芽細胞から損傷された心臓の心筋へのカテーテルベースの送達が、J a c o b y らによって説明されており、例えば、米国特許公開第20060263338号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。J a c o b y によると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、その少なくとも一部が血管内に挿入され、針を通して細胞組成物を対象の心臓の局所領域に送達する。

【0694】

神経毒素を用いて喘息を治療するための装置が、D e e m らによって説明されており、例えば、米国特許公開第20060225742号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。D e e m によると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、その針を通して神経毒素を気管支組織内に送達する。

40

【0695】

複数成分療法を施すための方法が、N a y a k によって説明されており、例えば、米国特許第7,699,803号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。N a y a k によると、複数の注入カニューレがデバイス内に組み込まれてもよく、深さを制御するための深度スロットが含まれてもよく、治療用物質はそこで組織内に送達される。

【0696】

チャンネルを切断し、少なくとも1つの治療剤を組織の所望の領域内に送達するための外科用デバイスが、M c I n t y r e らによって説明されており、例えば、米国特許第8,

50

012, 096号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。McIntyreによると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、これはチャンネルを取り囲む組織の領域内に治療剤を分注し、特に経心筋血行再建手術によく適している。

【0697】

雌哺乳類における膀胱の機能的障害を治療する方法が、Versiらによって説明されており、例えば、米国特許第8,029,496号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Versiによると、一連のマイクロニードルがデバイス内に組み込まれ、その針を通して直接膀胱の膀胱三角部内に治療剤を送達する。

10

【0698】

流体を柔軟な生体バリアーに送達するためのデバイスおよび方法が、Yeshurunらによって説明されており、例えば、米国特許第7,998,119号（デバイス）および同第8,007,466（方法）号に教示され、それらの内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Yeshurunによると、デバイス上のマイクロニードルが柔軟な生体バリアーに透過および伸長し、流体は中空型マイクロニードルの孔を通して注入される。

【0699】

心外膜表面を有し、心外膜を有する心臓の組織の領域に物質を介して注入するための、胴体内に配置される方法が、Bonnerらによって説明されており、例えば、米国特許第7,628,780号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Bonnerによると、デバイスは、針を組織内に操縦し、その針を通して医薬剤を組織内に注入するための細長いシャフトおよび遠位注入ヘッドを有する。

20

【0700】

穿刺創を密封するためのデバイスが、Nielsenらによって説明されており、例えば、米国特許第7,972,358号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Nielsenによると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、穿刺路を取り囲む組織内に閉鎖剤を送達する。

【0701】

筋形成および血管形成のための方法が、Chiuらによって説明されており、例えば、米国特許第6,551,338号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Chiuによると、少なくとも1.25mmの最大直径と、6～20mmの穿刺深度を提供するのに有効な長さ、を有する5～15の針がデバイス内に組み込まれ、心筋近くに挿入し、外因性血管新生または筋原性因子をその針の少なくとも一部の中にある導管を通してその心筋に供給する。

30

【0702】

前立腺組織の治療ための方法が、Bolmsjらによって説明されており、例えば、米国特許第6,524,270号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Bolmsjによると、尿道を通して挿入されるカテーテルを含むデバイスが、周囲の前立腺組織内に伸長可能な少なくとも1つの中空端を有する。収斂薬および鎮痛薬は、その端部を通してその前立腺組織内に投与される。

40

【0703】

流体を骨内部位に輸注する方法が、Findlayらによって説明されており、例えば、米国特許第6,761,726号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Findlayによると、軟質材料の層で覆われた材料の硬質殻を貫通することが可能な複数の針がデバイス内に組み込まれ、その材料の硬質殻から下へ規定の距離で流体を送達する。

【0704】

薬物を血管壁内に注入するためのデバイスが、Vigilらによって説明されており、例えば、米国特許第5,713,863号に教示され、この内容は、参照によりこれらの

50

全体が本明細書に組み込まれる。V i g i lによると、複数の注入器がデバイス内の可撓管のそれぞれの上に設置され、血管壁内への輸注のためにマルチルーメンカテーテルを通してその可撓管の中へ、およびその注入器の外へ薬物流体を導入する。

【0705】

治療用および／または診断用薬剤を身体通路を取り囲む組織に送達するためのカテーテルが、F a x o nらによって説明されており、例えば、米国特許第5, 464, 395号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。F a x o nによると、少なくとも1つの針カニューレがカテーテル内に組み込まれ、カテーテルの外部へ突出するその針を通して所望の薬剤を組織に送達する。

【0706】

治療剤を送達するためのバルーンカテーテルが、O r rによって説明されており、例えば、国際公開第W O 2 0 1 0 0 2 4 8 7 1号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。O r rによると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、治療剤を組織内の異なる深さに送達する。

【0707】

電流を利用する方法およびデバイス

本明細書に教示される単回、複数回、または分割された投薬レジメンに従って、電流を利用する方法およびデバイスを用いて、本発明のmmRNAを送達することができる。そのような方法およびデバイスが、以下に記載される。

【0708】

電気コラーゲン誘導治療デバイスが、M a r q u e zによって説明されており、例えば、米国特許公開第20090137945号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。M a r q u e zによると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、皮膚を繰り返し穿刺し、最初に皮膚に適用される物質の一部を皮膚部分に引き込む。

【0709】

動電システムが、E t h e r e d g eらによって説明されており、例えば、米国特許公開第20070185432号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。E t h e r e d g eによると、マイクロニードルがデバイス内に組み込まれ、電流によって、針を通して薬物を標的とされる治療部位に推進する。

【0710】

イオン泳動デバイスが、M a t s u m u r aらによって説明されており、例えば、米国特許第7, 437, 189号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。M a t s u m u r aによると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、イオン化可能薬物をより速い速度で、またはより高効率で生体内に送達することができる。

【0711】

無針注入およびエレクトロポレーションによる生物活性剤の皮内送達が、H o f f m a n nらによって説明されており、例えば、米国特許第7, 171, 264号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。H o f f m a n nによると、1つ以上の無針注入器がエレクトロポレーションデバイスに組み込まれ、無針注入とエレクトロポレーションとの組み合わせは、薬剤を皮膚、筋肉、または粘膜の細胞内に導入するのに十分である。

【0712】

電気透過化処理(electropermeabilization)を介した細胞内送達のための方法が、L u n d k v i s tらによって説明されており、例えば、米国特許第6, 625, 486号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。L u n d k v i s tによると、一対の針電極がカテーテル内に組み込まれる。そのカテーテルは体内ルーメン内に位置し、そのルーメンを取り囲む組織内に透過させるためのその針電極が続く。次いでデバイスは、その針電極のうちの少なくとも1つを

10

20

30

40

50

通して薬剤を導入し、その針電極で電界をかけ、その薬剤が細胞膜を通して治療部位の細胞内へ通過することを可能にする。

【0713】

経皮免疫化のための送達システムが、Levinらによって説明されており、例えば、国際公開第WO2006003659号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Levinによると、複数の電極がデバイス内に組み込まれ、電気エネルギーを電極間に印加し、経皮送達を容易にするためのマイクロチャネルを皮膚内に生成する。

【0714】

RFエネルギーを皮膚の中へ送達するための方法が、Schomackerによって説明されており、例えば、国際公開第WO2011163264号に教示され、この内容は、参照によりこれらの全体が本明細書に組み込まれる。Schomackerによると、複数の針がデバイス内に組み込まれ、針がRFエネルギーをプレート上の孔を通して皮膚に挿入し、送達するように、皮膚をプレートとの接触に誘引するために減圧する。

10

【0715】

VII. 定義

本明細書中の種々の箇所で、本開示の化合物の置換基が、群においてまたは範囲において開示される。本開示は、そのような群および範囲のメンバーのありとあらゆる個々の部分的組み合わせを含むことが具体的に意図される。例えば、「C₁₋₆アルキル」という用語は、メチル、エチル、C₃アルキル、C₄アルキル、C₅アルキル、およびC₆アルキルを個々に開示することが具体的に意図される。

20

【0716】

約：本明細書で使用されるとき、「約」という用語は、列挙される値の+/-10%を意味する。

【0717】

組み合わせて投与される：本明細書で使用されるとき、「組み合わせて投与される」または「組み合わせた投与」という用語は、2つ以上の薬剤が、同時にまたは患者に対する各薬剤の効果の重複があるような間隔内で、対象に投与されることを意味する。いくつかの実施形態において、それらは、互いの約60、30、15、10、5、または1分以内に投与される。いくつかの実施形態において、薬剤の投与は、組み合わせ（例えば、相乗的）効果が達成されるように、互いに十分に近接して間隔を置かれる。

30

【0718】

動物：本明細書で使用されるとき、「動物」という用語は、動物界の任意のメンバーを指す。いくつかの実施形態において、「動物」は、任意の発達段階にあるヒトを指す。いくつかの実施形態において、「動物」は、任意の発達段階にある非ヒト動物を指す。ある特定の実施形態において、非ヒト動物は、哺乳動物（例えば、齧歯類、マウス、ラット、ウサギ、サル、イヌ、ネコ、ヒツジ、ウシ、霊長類、またはブタ）である。いくつかの実施形態において、動物には、哺乳動物、鳥類、爬虫類、両生類、サカナ、および蠕虫が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、動物は、トランスジェニック動物、遺伝子操作動物、またはクローンである。

40

【0719】

目的とする抗原または所望の抗原：本明細書で使用されるとき、「目的とする抗原」または「所望の抗原」という用語は、本明細書に記載の抗体、ならびにそれらの断片、変異体、変異形、および改変体によって免疫特異的に結合される、本明細書に提供されるタンパク質および他の生体分子を含む。目的とする抗原の例としては、インスリン、インスリン様成長因子、hGH、tPA、インターロイキン（IL）、例えば、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、インターフェロン（IFN） α 、IFN β 、IFN γ 、IFN ω 、またはIFN τ 、TNF α およびTNF β 、TNF γ 、TRAIL等の腫瘍壊死因子（

50

TNF) ; G-CSF、GM-CSF、M-CSF、MCP-1、およびVEGF等のサイトカインが挙げられるが、これらに限定されない。

【0720】

およそ：本明細書で使用されるとき、目的とする1つ以上の値に適用される「およそ」または「約」という用語は、定められる参照値と同様である値を指す。ある特定の実施形態において、「およそ」または「約」という用語は、別途定められるか、または文脈から別途明白でない限り、定められる参照値のいずれかの方向（それよりも大きいまたはそれよりも小さい）における、25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、またはそれ未満の内に該当する値の範囲を指す（そのような数字が可能な値の100%を超えるような場合を除く）。 10

【0721】

と会合される：本明細書で使用されるとき、2つ以上の部分に関して使用される際、「と会合される」、「複合体化される」、「連結される」、「結合される」、および「係留される」という用語は、直接、または連結剤としての役目を果たす1つ以上のさらなる部分を介してのいずれかで、その部分が互いに物理的に会合されるか、または結合されて、その部分が、構造が使用される条件下、例えば、生理的条件下で、物理的に会合されたままであるように十分に安定した構造を形成することを意味する。「会合」は、厳密に直接的な共有化学結合を経る必要はない。それは、「会合した」実体が物理的に会合したままであるように十分に安定したイオン結合もしくは水素結合またはハイブリダイゼーションベースの結合性も示唆し得る。 20

【0722】

二機能性：本明細書で使用されるとき、「二機能性」という用語は、少なくとも2つの機能を維持することが可能である任意の物質、分子、または部分を指す。この機能は、同じ結果または異なる結果を達成してもよい。この機能をもたらす構造は、同じであることも、異なることもある。例えば、本発明の二機能性修飾RNAが、細胞傷害性ペプチド（第1の機能）をコードし得る一方で、コードRNAを含むヌクレオシドは、それ自体として、細胞傷害性（第2の機能）である。この例において、癌細胞への二機能性修飾RNAの送達は、癌を寛解させ得るまたは治療し得るペプチドまたはタンパク質分子をもたらすだけでなく、万一、修飾RNAの翻訳の代わりに分解が生じることがあった場合、ヌクレオシドの細胞傷害性ペイロードを細胞に送達するであろう。 30

【0723】

生体適合性：本明細書で使用されるとき、「生体適合性」という用語は、損傷、毒性、または免疫系による拒絶の危険性をほとんどもしくは全くもたさず、生細胞、組織、器官、または系と適合性であることを意味する。

【0724】

生分解性：本明細書で使用されるとき、「生分解性」という用語は、生き物の作用によって無害の生成物へと分解されることが可能であることを意味する。

【0725】

生物学的に活性：本明細書で使用されるとき、「生物学的に活性」という表現は、生体系および／または生物において活性を有する任意の物質の特徴を指す。例えば、生物に投与されるときに、その生物に対して生物学的効果を有する物質は、生物学的に活性であると見なされる。特定の実施形態において、本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAは、そのシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAのほんの一部でも、生物学的に活性であるか、生物学的に関連性があると見なされる活性を模倣する場合、生物学的に活性であると見なされ得る。 40

【0726】

がん：本明細書で使用されるとき、対象の「がん」という用語は、制御不能の増殖、不死、転移能、速い成長および増殖速度といった特徴、ならびに、一定の特徴的な形態学的特長を保有する細胞の存在を指す。しばしばがん細胞は腫瘍の形態であるが、そのような 50

細胞は対象内に単独で存在し得、または、白血球細胞のように独立した細胞として血流内を循環し得る。

【0727】

細胞の成長：本明細書で使用されるとき、「細胞の成長」という用語は、主に細胞の数における成長と関連し、これは、細胞の再生の速度が細胞死（例えば、アポトーシスまたは壊死）の速度よりも大きいときに、細胞の再生によって発生する（すなわち、増殖）。

【0728】

化学用語：以下は、「アシル」から「チオール」までの種々の化学用語の定義を提供する。

【0729】

本明細書で使用されるとき、「アシル」という用語は、本明細書に定義されるカルボニル基を介して親分子基に結合される、本明細書に定義される水素またはアルキル基（例えば、ハロアルキル基）を表し、ホルミル（すなわち、カルボキシアルデヒド基）、アセチル、プロピオニル、ブタノイル等により例として示される。例示の非置換アシル基は、1～7、1～11、または1～21個の炭素を含む。いくつかの実施形態において、アルキル基は、本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換される。

【0730】

本明細書で使用されるとき、「アシルアミノ」という用語は、本明細書に定義されるアミノ基を介して親分子基に結合される、本明細書に定義されるアシル基を表す（すなわち、 $-N(R^{N1})-C(O)-R$ であり、式中、Rは、Hであるか、または任意に置換される C_{1-6} 、 C_{1-10} 、もしくは C_{1-20} アルキル基であり、 R^{N1} は、本明細書に定義される通りである）。例示の非置換アシルアミノ基は、1～41個の炭素（例えば、1～7、1～13、1～21、2～7、2～13、2～21、または2～41個の炭素）を含む。いくつかの実施形態において、アルキル基は、本明細書に記載の1、2、3、もしくは4個の置換基でさらに置換され、かつ／またはアミノ基は、 $-NH_2$ もしくは $-NHR^{N1}$ であり、式中、 R^{N1} は、独立して、OH、 NO_2 、 NH_2 、 NR^{N2}_2 、 SO_2OR^{N2} 、 SO_2R^{N2} 、 SOR^{N2} 、アルキル、またはアリールであり、各 R^{N2} は、H、アルキル、またはアリールであり得る。

【0731】

本明細書で使用されるとき、「アシルオキシ」という用語は、酸素原子を介して親分子基に結合される、本明細書に定義されるアシル基を表す（すなわち、 $-O-C(O)-R$ であり、式中、Rは、Hであるか、または任意に置換される C_{1-6} 、 C_{1-10} 、もしくは C_{1-20} アルキル基である）。例示の非置換アシルオキシ基は、1～21個の炭素（例えば、1～7または1～11個の炭素）を含む。いくつかの実施形態において、アルキル基は、本明細書に記載の1、2、3、もしくは4個の置換基でさらに置換され、かつ／またはアミノ基は、 $-NH_2$ もしくは $-NHR^{N1}$ であり、式中、 R^{N1} は、独立して、OH、 NO_2 、 NH_2 、 NR^{N2}_2 、 SO_2OR^{N2} 、 SO_2R^{N2} 、 SOR^{N2} 、アルキル、またはアリールであり、各 R^{N2} は、H、アルキル、またはアリールであり得る。

【0732】

本明細書で使用されるとき、「アルカリール (alkaryl)」という用語は、本明細書に定義されるアルキレン基を介して親分子基に結合される、本明細書に定義されるアリール基を表す。例示の非置換アルカリール基は、7～30個の炭素（例えば、 C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール、 C_{1-10} アルク- C_{6-10} アリール、または C_{1-20} アルク- C_{6-10} アリール等の、7～16または7～20個の炭素）である。いくつかの実施形態において、アルキレンおよびアリールは各々、それぞれの基について本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。接頭辞「アルク-」に続く他の基は、同じように定義され、ここで「アルク」は、別途注記のない限り、 C_{1-6} アルキレンを指し、結合される化学構造は、本明細書に定義される通りである。

【0733】

10

20

30

40

50

「アルクシクロアルキル (alk cycloalkyl)」という用語は、本明細書に定義されるアルキレン基 (例えば、1～4、1～6、1～10、または1～20個の炭素のアルキレン基) を介して親分子基に結合される、本明細書に定義されるシクロアルキル基を表す。いくつかの実施形態において、アルキレンおよびシクロアルキルは各々、それぞれの基について本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

【0734】

本明細書で使用されるとき、「アルケニル」という用語は、別途明記されない限り、1つ以上の炭素-炭素二重結合を含有する、2～20個の炭素 (例えば、2～6または2～10個の炭素) の、一価の直鎖または分岐鎖基を表し、エテニル、1-プロペニル、2-プロペニル、2-メチル-1-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル等により例として示される。アルケニルは、シスおよびトランス異性体の両方を含む。アルケニル基は、本明細書に定義されるアミノ、アリール、シクロアルキル、もしくはヘテロシクリル (例えば、ヘテロアリール) から独立して選択される1、2、3、もしくは4個の置換基、または本明細書に記載の例示のアルキル置換基のうちのいずれかで、任意に置換されてもよい。

10

【0735】

「アルケニルオキシ」という用語は、式-ORの化学置換基を表し、式中、Rは、別途明記されない限り、 C_{2-20} アルケニル基 (例えば、 C_{2-6} または C_{2-10} アルケニル) である。例示のアルケニルオキシ基には、エテニルオキシ、プロペニルオキシ等が含まれる。いくつかの実施形態において、アルケニル基は、本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基 (例えば、ヒドロキシ基) でさらに置換され得る。

20

【0736】

「アルクヘテロアリール」という用語は、本明細書に定義されるアルキレン基を介して親分子基に結合される、本明細書に定義されるヘテロアリール基を指す。例示の非置換アルクヘテロアリール基は、2～32個の炭素 (例えば、 C_{1-6} アルク- C_{1-12} ヘテロアリール、 C_{1-10} アルク- C_{1-12} ヘテロアリール、または C_{1-20} アルク- C_{1-12} ヘテロアリール等の、2～22、2～18、2～17、2～16、3～15、2～14、2～13、または2～12個の炭素) である。いくつかの実施形態において、アルキレンおよびヘテロアリールは各々、それぞれの基について本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。アルクヘテロアリール基は、アルクヘテロシクリル基の部分集合である。

30

【0737】

「アルクヘテロシクリル」という用語は、本明細書に定義されるアルキレン基を介して親分子基に結合される、本明細書に定義されるヘテロシクリル基を表す。例示の非置換アルクヘテロシクリル基は、2～32個の炭素 (例えば、 C_{1-6} アルク- C_{1-12} ヘテロシクリル、 C_{1-10} アルク- C_{1-12} ヘテロシクリル、または C_{1-20} アルク- C_{1-12} ヘテロシクリル等の、2～22、2～18、2～17、2～16、3～15、2～14、2～13、または2～12個の炭素) である。いくつかの実施形態において、アルキレンおよびヘテロシクリルは各々、それぞれの基について本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

40

【0738】

「アルコキシ」という用語は、式-ORの化学置換基を表し、式中、Rは、別途明記されない限り、 C_{1-20} アルキル基 (例えば、 C_{1-6} または C_{1-10} アルキル) である。例示のアルコキシ基には、メトキシ、エトキシ、プロポキシ (例えば、*n*-プロポキシおよびイソプロポキシ)、*t*-ブトキシ等が含まれる。いくつかの実施形態において、アルキル基は、本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基 (例えば、ヒドロキシまたはアルコキシ) でさらに置換され得る。

【0739】

「アルコキシアルコキシ」という用語は、アルコキシ基で置換されるアルコキシ基を表

50

す。例示の非置換アルコキシアルコキシ基は、2～40個の炭素（例えば、 C_{1-6} アルコキシ- C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-10} アルコキシ- C_{1-10} アルコキシ、または C_{1-20} アルコキシ- C_{1-20} アルコキシ等の、2～12または2～20個の炭素）を含む。いくつかの実施形態において、各アルコキシ基は、本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

【0740】

「アルコキシアルキル」という用語は、アルコキシ基で置換されるアルキル基を表す。例示の非置換アルコキシアルキル基は、2～40個の炭素（例えば、 C_{1-6} アルコキシ- C_{1-6} アルキル、 C_{1-10} アルコキシ- C_{1-10} アルキル、または C_{1-20} アルコキシ- C_{1-20} アルキル等の、2～12または2～20個の炭素）を含む。いくつかの実施形態において、アルキルおよびアルコキシは各々、それぞれの基について本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

10

【0741】

本明細書で使用されるとき、「アルコキシカルボニル」という用語は、カルボニル原子を介して親分子基に結合される、本明細書に定義されるアルコキシを表す（例えば、 $-C(O)-OR$ であり、式中、Rは、Hであるか、または任意に置換される C_{1-6} 、 C_{1-10} 、もしくは C_{1-20} アルキル基である）。例示の非置換アルコキシカルボニルは、1～21個の炭素（例えば、1～11または1～7個の炭素）を含む。いくつかの実施形態において、アルコキシ基は、本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換される。

20

【0742】

本明細書で使用されるとき、「アルコキシカルボニルアルコキシ」という用語は、本明細書に定義されるアルコキシカルボニル基で置換される、本明細書に定義されるアルコキシ基を表す（例えば、 $-O-アルキル-C(O)-OR$ であって、式中、Rは、任意に置換される C_{1-6} 、 C_{1-10} 、または C_{1-20} アルキル基である）。例示の非置換アルコキシカルボニルアルコキシは、3～41個の炭素（例えば、 C_{1-6} アルコキシカルボニル- C_{1-6} アルコキシ、 C_{1-10} アルコキシカルボニル- C_{1-10} アルコキシ、または C_{1-20} アルコキシカルボニル- C_{1-20} アルコキシ等の、3～10、3～13、3～17、3～21、または3～31個の炭素）を含む。いくつかの実施形態において、各アルコキシ基は、独立して、本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基（例えば、ヒドロキシ基）でさらに置換される。

30

【0743】

本明細書で使用されるとき、「アルコキシカルボニルアルキル」という用語は、本明細書に定義されるアルコキシカルボニル基で置換される、本明細書に定義されるアルキル基を表す（例えば、 $-アルキル-C(O)-OR$ であって、式中、Rは、任意に置換される C_{1-20} 、 C_{1-10} 、または C_{1-6} アルキル基である）。例示の非置換アルコキシカルボニルアルキルは、3～41個の炭素（例えば、 C_{1-6} アルコキシカルボニル- C_{1-6} アルキル、 C_{1-10} アルコキシカルボニル- C_{1-10} アルキル、または C_{1-20} アルコキシカルボニル- C_{1-20} アルキル等の、3～10、3～13、3～17、3～21、または3～31個の炭素）を含む。いくつかの実施形態において、各アルキルおよびアルコキシ基は、独立して、本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基（例えば、ヒドロキシ基）でさらに置換される。

40

【0744】

本明細書で使用されるとき、「アルキル」という用語は、別途明記されない限り、1～20個（例えば、1～10または1～6個）の炭素の直鎖および分岐鎖両方の飽和基を含む。アルキル基は、メチル、エチル、 n -およびイソプロピル、 n -、 sec -、イソ-、および $tert$ -ブチル、ネオペンチル等により例として示され、次のものからなる群から独立して選択される1、2、3個の置換基で、または2個以上の炭素のアルキル基の場合には4個の置換基で、任意に置換されてもよい：（1） C_{1-6} アルコキシ；（2） C_{1-6} アルキルスルフィニル；（3）本明細書に定義されるアミノ（例えば、非置換

50

アミノ（すなわち、 $-\text{NH}_2$ ）または置換アミノ（すなわち、 $-\text{N}(\text{R}^{\text{N}1})_2$ 、式中、 $\text{R}^{\text{N}1}$ は、アミノについて定義される通りである）；（４） C_{6-10} アリール- C_{1-6} アルコキシ；（５）アジド；（６）ハロ；（７）（ C_{2-9} ヘテロシクリル）オキシ；（８）ヒドロキシ；（９）ニトロ；（１０）オキソ（例えば、カルボキシアルデヒドまたはアシル）；（１１） C_{1-7} スピロシクリル；（１２）チオアルコキシ；（１３）チオール；（１４） $-\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}'}$ （式中、 $\text{R}^{\text{A}'}$ は、（ａ） C_{1-20} アルキル（例えば、 C_{1-6} アルキル）、（ｂ） C_{2-20} アルケニル（例えば、 C_{2-6} アルケニル）、（ｃ） C_{6-10} アリール、（ｄ）水素、（ｅ） C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール、（ｆ）アミノ- C_{1-20} アルキル、（ｇ） $-(\text{CH}_2)_{s2}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{s1}(\text{CH}_2)_{s3}\text{OR}'$ のポリエチレングリコール（式中、 $s1$ は、 $1\sim 10$ （例えば、 $1\sim 6$ または $1\sim 4$ ）の整数であり、 $s2$ および $s3$ の各々は、独立して、 $0\sim 10$ （例えば、 $0\sim 4$ 、 $0\sim 6$ 、 $1\sim 4$ 、 $1\sim 6$ 、または $1\sim 10$ ）の整数であり、 R' は、 H または C_{1-20} アルキルである）、および（ｈ） $-\text{NR}^{\text{N}1}(\text{CH}_2)_{s2}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{s1}(\text{CH}_2)_{s3}\text{NR}^{\text{N}1}$ のアミノ-ポリエチレングリコール（式中、 $s1$ は、 $1\sim 10$ （例えば、 $1\sim 6$ または $1\sim 4$ ）の整数であり、 $s2$ および $s3$ の各々は、独立して、 $0\sim 10$ （例えば、 $0\sim 4$ 、 $0\sim 6$ 、 $1\sim 4$ 、 $1\sim 6$ 、または $1\sim 10$ ）の整数であり、各 $\text{R}^{\text{N}1}$ は、独立して、水素であるか、または任意に置換される C_{1-6} アルキルである）からなる群から選択される）；（１５） $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{\text{B}'}\text{R}^{\text{C}'}$ （式中、 $\text{R}^{\text{B}'}$ および $\text{R}^{\text{C}'}$ の各々は、独立して、（ａ）水素、（ｂ） C_{1-6} アルキル、（ｃ） C_{6-10} アリール、および（ｄ） C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリールからなる群から選択される）；（１６） $-\text{SO}_2\text{R}^{\text{D}'}$ （式中、 $\text{R}^{\text{D}'}$ は、（ａ） C_{1-6} アルキル、（ｂ） C_{6-10} アリール、（ｃ） C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール、および（ｄ）ヒドロキシからなる群から選択される）；（１７） $-\text{SO}_2\text{NR}^{\text{E}'}\text{R}^{\text{F}'}$ （式中、 $\text{R}^{\text{E}'}$ および $\text{R}^{\text{F}'}$ の各々は、独立して、（ａ）水素、（ｂ） C_{1-6} アルキル、（ｃ） C_{6-10} アリール、および（ｄ） C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリールからなる群から選択される）；（１８） $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{G}'}$ （式中、 $\text{R}^{\text{G}'}$ は、（ａ） C_{1-20} アルキル（例えば、 C_{1-6} アルキル）、（ｂ） C_{2-20} アルケニル（例えば、 C_{2-6} アルケニル）、（ｃ） C_{6-10} アリール、（ｄ）水素、（ｅ） C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール、（ｆ）アミノ- C_{1-20} アルキル、（ｇ） $-(\text{CH}_2)_{s2}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{s1}(\text{CH}_2)_{s3}\text{OR}'$ のポリエチレングリコール（式中、 $s1$ は、 $1\sim 10$ （例えば、 $1\sim 6$ または $1\sim 4$ ）の整数であり、 $s2$ および $s3$ の各々は、独立して、 $0\sim 10$ （例えば、 $0\sim 4$ 、 $0\sim 6$ 、 $1\sim 4$ 、 $1\sim 6$ 、または $1\sim 10$ ）の整数であり、 R' は、 H または C_{1-20} アルキルである）、および（ｈ） $-\text{NR}^{\text{N}1}(\text{CH}_2)_{s2}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{s1}(\text{CH}_2)_{s3}\text{NR}^{\text{N}1}$ のアミノ-ポリエチレングリコール（式中、 $s1$ は、 $1\sim 10$ （例えば、 $1\sim 6$ または $1\sim 4$ ）の整数であり、 $s2$ および $s3$ の各々は、独立して、 $0\sim 10$ （例えば、 $0\sim 4$ 、 $0\sim 6$ 、 $1\sim 4$ 、 $1\sim 6$ 、または $1\sim 10$ ）の整数であり、各 $\text{R}^{\text{N}1}$ は、独立して、水素であるか、または任意に置換される C_{1-6} アルキルである）からなる群から選択される）；（１９） $-\text{NR}^{\text{H}'}\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{I}'}$ （式中、 $\text{R}^{\text{H}'}$ は、（ａ１）水素および（ｂ１） C_{1-6} アルキルからなる群から選択され、 $\text{R}^{\text{I}'}$ は、（ａ２） C_{1-20} アルキル（例えば、 C_{1-6} アルキル）、（ｂ２） C_{2-20} アルケニル（例えば、 C_{2-6} アルケニル）、（ｃ２） C_{6-10} アリール、（ｄ２）水素、（ｅ２） C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール、（ｆ２）アミノ- C_{1-20} アルキル、（ｇ２） $-(\text{CH}_2)_{s2}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{s1}(\text{CH}_2)_{s3}\text{OR}'$ のポリエチレングリコール（式中、 $s1$ は、 $1\sim 10$ （例えば、 $1\sim 6$ または $1\sim 4$ ）の整数であり、 $s2$ および $s3$ の各々は、独立して、 $0\sim 10$ （例えば、 $0\sim 4$ 、 $0\sim 6$ 、 $1\sim 4$ 、 $1\sim 6$ 、または $1\sim 10$ ）の整数であり、 R' は、 H または C_{1-20} アルキルである）、および（ｈ２） $-\text{NR}^{\text{N}1}(\text{CH}_2)_{s2}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{s1}(\text{CH}_2)_{s3}\text{NR}^{\text{N}1}$ のアミノ-ポリエチレングリコール（式中、 $s1$ は、 $1\sim 10$ （例えば、 $1\sim 6$ または $1\sim 4$ ）の整数であり、 $s2$ および $s3$ の各々は、独立して、 $0\sim 10$ （例えば、 $0\sim 4$ 、 $0\sim 6$ 、 $1\sim 4$ 、 $1\sim 6$ 、または $1\sim 10$ ）の整数であり、各 $\text{R}^{\text{N}1}$ は、独立して、水素であるか、また

10

20

30

40

50

は任意に置換される C_{1-6} アルキルである) からなる群から選択される) ; (20) - NR^J - $C(O)OR^K$ (式中、 R^J は、(a1) 水素および (b1) C_{1-6} アルキルからなる群から選択され、 R^K は、(a2) C_{1-20} アルキル (例えば、 C_{1-6} アルキル)、(b2) C_{2-20} アルケニル (例えば、 C_{2-6} アルケニル)、(c2) C_{6-10} アリール、(d2) 水素、(e2) C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール、(f2) アミノ- C_{1-20} アルキル、(g2) -(CH_2)_{s2} (OCH_2CH_2)_{s1} (CH_2)_{s3} OR' のポリエチレングリコール (式中、s1 は、1~10 (例えば、1~6 または 1~4) の整数であり、s2 および s3 の各々は、独立して、0~10 (例えば、0~4、0~6、1~4、1~6、または 1~10) の整数であり、 R' は、H または C_{1-20} アルキルである)、および (h2) - NR^{N1} (CH_2)_{s2} (CH_2CH_2O)_{s1} (CH_2)_{s3} NR^{N1} のアミノ-ポリエチレングリコール (式中、s1 は、1~10 (例えば、1~6 または 1~4) の整数であり、s2 および s3 の各々は、独立して、0~10 (例えば、0~4、0~6、1~4、1~6、または 1~10) の整数であり、各 R^{N1} は、独立して、水素であるか、または任意に置換される C_{1-6} アルキルである) からなる群から選択される) ; ならびに (21) アミジン。いくつかの実施形態において、これらの基の各々は、本明細書に記載されるようにさらに置換され得る。例えば、 C_1 -アルカリールのアルキレン基は、オキシ基でさらに置換されて、それぞれのアリーロイル (aryloyl) 置換基をもたらすことができる。

10

【0745】

本明細書で使用されるとき、「アルキレン」および接頭辞「アルク-」という用語は、2つの水素原子の除去によって直鎖または分岐鎖の飽和炭化水素に由来する、飽和二価炭化水素基を表し、メチレン、エチレン、イソプロピレン等により例として示される。「 C_{x-y} アルキレン」および接頭辞「 C_{x-y} アルク-」という用語は、 $x \sim y$ 個の炭素有するアルキレン基を表す。 x に関する例示の値は、1、2、3、4、5、および6であり、 y に関する例示の値は、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、または20である (例えば、 C_{1-6} 、 C_{1-10} 、 C_{2-20} 、 C_{2-6} 、 C_{2-10} 、または C_{2-20} アルキレン)。いくつかの実施形態において、アルキレンは、アルキル基について本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

20

【0746】

本明細書で使用されるとき、「アルキルスルフィニル」という用語は、-S(O)-基を介して親分子基に結合されるアルキル基を表す。例示の非置換アルキルスルフィニル基は、1~6、1~10、または1~20個の炭素である。いくつかの実施形態において、アルキル基は、本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

30

【0747】

本明細書で使用されるとき、「アルキルスルフィニルアルキル」という用語は、アルキルスルフィニル基によって置換された、本明細書に定義されるアルキル基を表す。例示の非置換アルキルスルフィニルアルキル基は、2~12、2~20、または2~40個の炭素である。いくつかの実施形態において、各アルキル基は、本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

40

【0748】

本明細書で使用されるとき、「アルキニル」という用語は、炭素-炭素三重結合を含有する、2~20個の炭素原子 (例えば、2~4、2~6、または2~10個の炭素) の、一価の直鎖または分岐鎖基を表し、エチニル、1-プロピニル等により例として示される。アルキニル基は、本明細書に定義されるアリール、シクロアルキル、またはヘテロシクリル (例えば、ヘテロアリール) から独立して選択される1、2、3、もしくは4個の置換基、または本明細書に記載の例示のアルキル置換基のうちのいずれかで、任意に置換されてもよい。

【0749】

50

「アルキニルオキシ」という用語は、式 $-OR$ の化学置換基を表し、式中、 R は、別途明記されない限り、 C_{2-20} アルキニル基（例えば、 C_{2-6} または C_{2-10} アルキニル）である。例示のアルキニルオキシ基には、エチニルオキシ、プロピニルオキシ等が含まれる。いくつかの実施形態において、アルキニル基は、本明細書に定義される 1、2、3、または 4 個の置換基（例えば、ヒドロキシ基）でさらに置換され得る。

【0750】

本明細書で使用されるとき、「アミジン」という用語は、 $-C(=NH)NH_2$ 基を表す。

【0751】

本明細書で使用されるとき、「アミノ」という用語は、 $-N(R^{N1})_2$ を表し、式中、各 R^{N1} は、独立して、 H 、 OH 、 NO_2 、 $N(R^{N2})_2$ 、 SO_2OR^{N2} 、 SO_2R^{N2} 、 SOR^{N2} 、 N -保護基、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アリール、アルカリール、シクロアルキル、アルクシクロアルキル、カルボキシアルキル、スルホアルキル、ヘテロシクリル（例えば、ヘテロアリール）、またはアルクヘテロシクリル（例えば、アルクヘテロアリール）であり、これらの列挙される R^{N1} 基の各々は、各基について本明細書に定義されるように任意に置換され得るか、または 2 つの R^{N1} が組み合わさって、ヘテロシクリルもしくは N 保護基を形成し、各 R^{N2} は、独立して、 H 、アルキル、またはアリールである。本発明のアミノ基は、非置換アミノ（すなわち、 $-NH_2$ ）または置換アミノ（すなわち、 $-N(R^{N1})_2$ ）であり得る。好ましい実施形態において、アミノは、 $-NH_2$ または $-NHR^{N1}$ であり、式中、 R^{N1} は、独立して、 OH 、 NO_2 、 NH_2 、 NR^{N2}_2 、 SO_2OR^{N2} 、 SO_2R^{N2} 、 SOR^{N2} 、アルキル、カルボキシアルキル、スルホアルキル、またはアリールであり、各 R^{N2} は、 H 、 C_{1-20} アルキル（例えば、 C_{1-6} アルキル）、または C_{6-10} アリールであり得る。

【0752】

本明細書に記載の「アミノ酸」という用語は、側鎖、アミノ基、および酸性基（例えば、 $-CO_2H$ のカルボキシ基または $-SO_3H$ のスルホ基）を有する分子を指し、このアミノ酸は、側鎖、アミノ基、または酸性基（例えば、側鎖）によって親分子基に結合される。いくつかの実施形態において、アミノ酸は、カルボニル基によって親分子基に結合され、この側鎖またはアミノ基は、カルボニル基に結合される。例示の側鎖には、任意に置換されるアルキル、アリール、ヘテロシクリル、アルカリール、アルクヘテロシクリル、アミノアルキル、カルバモイルアルキル、およびカルボキシアルキルが含まれる。例示のアミノ酸には、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、ヒドロキシノルバリン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、ノルバリン、オルニチン、フェニルアラニン、プロリン、ピロリジン、セレノシステイン、セリン、タウリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、およびバリンが含まれる。アミノ酸基は、次のものからなる群から独立して選択される 1、2、3 個の置換基で、または 2 個以上の炭素のアミノ酸基の場合には 4 個の置換基で、任意に置換されてもよい：（1） C_{1-6} アルコキシ；（2） C_{1-6} アルキルスルフィニル；（3）本明細書に定義されるアミノ（例えば、非置換アミノ（すなわち、 $-NH_2$ ）または置換アミノ（すなわち、 $-N(R^{N1})_2$ （式中、 R^{N1} は、アミノについて定義される通りである））；（4） C_{6-10} アリール- C_{1-6} アルコキシ；（5）アジド；（6）ハロ；（7）（ C_{2-9} ヘテロシクリル）オキシ；（8）ヒドロキシ；（9）ニトロ；（10）オキソ（例えば、カルボキシアルデヒドまたはアシル）；（11） C_{1-7} スピロシクリル；（12）チオアルコキシ；（13）チオール；（14） $-CO_2R^A$ （式中、 R^A は、（a） C_{1-20} アルキル（例えば、 C_{1-6} アルキル）、（b） C_{2-20} アルケニル（例えば、 C_{2-6} アルケニル）、（c） C_{6-10} アリール、（d）水素、（e） C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール、（f）アミノ- C_{1-20} アルキル、（g） $-(CH_2)_s-2(OCH_2CH_2)_s-1(CH_2)_s-3OR$ のポリエチレングリコール（式中、 s は、1~10（例えば、1~6 または 1~4）

の整数であり、 s_2 および s_3 の各々は、独立して、 $0 \sim 10$ （例えば、 $0 \sim 4$ 、 $0 \sim 6$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 6$ 、または $1 \sim 10$ ）の整数であり、 R' は、 H または C_{1-20} アルキルである）、および $(h) - NR^{N1} (CH_2)_{s_2} (CH_2CH_2O)_{s_1} (CH_2)_{s_3} NR^{N1}$ のアミノポリエチレングリコール（式中、 s_1 は、 $1 \sim 10$ （例えば、 $1 \sim 6$ または $1 \sim 4$ ）の整数であり、 s_2 および s_3 の各々は、独立して、 $0 \sim 10$ （例えば、 $0 \sim 4$ 、 $0 \sim 6$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 6$ 、または $1 \sim 10$ ）の整数であり、各 R^{N1} は、独立して、水素であるか、または任意に置換される C_{1-6} アルキルである）からなる群から選択される）； $(15) - C(O)NR^{B'}R^{C'}$ （式中、 $R^{B'}$ および $R^{C'}$ の各々は、独立して、 (a) 水素、 (b) C_{1-6} アルキル、 (c) C_{6-10} アリール、および (d) C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリールからなる群から選択される）； $(16) - SO_2R^{D'}$ （式中、 $R^{D'}$ は、 (a) C_{1-6} アルキル、 (b) C_{6-10} アリール、 (c) C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール、および (d) ヒドロキシからなる群から選択される）； $(17) - SO_2NR^{E'}R^{F'}$ （式中、 $R^{E'}$ および $R^{F'}$ の各々は、独立して、 (a) 水素、 (b) C_{1-6} アルキル、 (c) C_{6-10} アリール、および (d) C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリールからなる群から選択される）； $(18) - C(O)R^G$ （式中、 R^G は、 (a) C_{1-20} アルキル（例えば、 C_{1-6} アルキル）、 (b) C_{2-20} アルケニル（例えば、 C_{2-6} アルケニル）、 (c) C_{6-10} アリール、 (d) 水素、 (e) C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール、 (f) アミノ- C_{1-20} アルキル、 $(g) - (CH_2)_{s_2} (OCH_2CH_2)_{s_1} (CH_2)_{s_3} OR'$ のポリエチレングリコール（式中、 s_1 は、 $1 \sim 10$ （例えば、 $1 \sim 6$ または $1 \sim 4$ ）の整数であり、 s_2 および s_3 の各々は、独立して、 $0 \sim 10$ （例えば、 $0 \sim 4$ 、 $0 \sim 6$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 6$ 、または $1 \sim 10$ ）の整数であり、 R' は、 H または C_{1-20} アルキルである）、および $(h) - NR^{N1} (CH_2)_{s_2} (CH_2CH_2O)_{s_1} (CH_2)_{s_3} NR^{N1}$ のアミノポリエチレングリコール（式中、 s_1 は、 $1 \sim 10$ （例えば、 $1 \sim 6$ または $1 \sim 4$ ）の整数であり、 s_2 および s_3 の各々は、独立して、 $0 \sim 10$ （例えば、 $0 \sim 4$ 、 $0 \sim 6$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 6$ 、または $1 \sim 10$ ）の整数であり、各 R^{N1} は、独立して、水素であるか、または任意に置換される C_{1-6} アルキルである）からなる群から選択される）； $(19) - NR^H C(O)R^I$ （式中、 R^H は、 $(a1)$ 水素および $(b1)$ C_{1-6} アルキルからなる群から選択され、 R^I は、 $(a2)$ C_{1-20} アルキル（例えば、 C_{1-6} アルキル）、 $(b2)$ C_{2-20} アルケニル（例えば、 C_{2-6} アルケニル）、 $(c2)$ C_{6-10} アリール、 $(d2)$ 水素、 $(e2)$ C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール、 $(f2)$ アミノ- C_{1-20} アルキル、 $(g2) - (CH_2)_{s_2} (OCH_2CH_2)_{s_1} (CH_2)_{s_3} OR'$ のポリエチレングリコール（式中、 s_1 は、 $1 \sim 10$ （例えば、 $1 \sim 6$ または $1 \sim 4$ ）の整数であり、 s_2 および s_3 の各々は、独立して、 $0 \sim 10$ （例えば、 $0 \sim 4$ 、 $0 \sim 6$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 6$ 、または $1 \sim 10$ ）の整数であり、 R' は、 H または C_{1-20} アルキルである）、および $(h2) - NR^{N1} (CH_2)_{s_2} (CH_2CH_2O)_{s_1} (CH_2)_{s_3} NR^{N1}$ のアミノポリエチレングリコール（式中、 s_1 は、 $1 \sim 10$ （例えば、 $1 \sim 6$ または $1 \sim 4$ ）の整数であり、 s_2 および s_3 の各々は、独立して、 $0 \sim 10$ （例えば、 $0 \sim 4$ 、 $0 \sim 6$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 6$ 、または $1 \sim 10$ ）の整数であり、各 R^{N1} は、独立して、水素であるか、または任意に置換される C_{1-6} アルキルである）からなる群から選択される）； $(20) - NR^J C(O)OR^K$ （式中、 R^J は、 $(a1)$ 水素および $(b1)$ C_{1-6} アルキルからなる群から選択され、 R^K は、 $(a2)$ C_{1-20} アルキル（例えば、 C_{1-6} アルキル）、 $(b2)$ C_{2-20} アルケニル（例えば、 C_{2-6} アルケニル）、 $(c2)$ C_{6-10} アリール、 $(d2)$ 水素、 $(e2)$ C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール、 $(f2)$ アミノ- C_{1-20} アルキル、 $(g2) - (CH_2)_{s_2} (OCH_2CH_2)_{s_1} (CH_2)_{s_3} OR'$ のポリエチレングリコール（式中、 s_1 は、 $1 \sim 10$ （例えば、 $1 \sim 6$ または $1 \sim 4$ ）の整数であり、 s_2 および s_3 の各々は、独立して、 $0 \sim 10$ （例えば、 $0 \sim 4$ 、 $0 \sim 6$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 6$ 、または $1 \sim 10$ ）の整数であり、 R' は、 H または C_{1-20} アルキルである）、および $(h2) - NR^{N1} (CH_2)_{s_2} (CH_2CH_2O)_{s_1} (CH_2)_{s_3} NR^{N1}$ のアミノポリエチレングリコール（式中、 s_1 は、 $1 \sim 10$ （例えば、 $1 \sim 6$ または $1 \sim 4$ ）の整数であり、 s_2 および s_3 の各々は、独立して、 $0 \sim 10$ （例えば、 $0 \sim 4$ 、 $0 \sim 6$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 6$ 、または $1 \sim 10$ ）の整数であり、各 R^{N1} は、独立して、水素であるか、または任意に置換される C_{1-6} アルキルである）からなる群から選択される）；

10

20

30

40

50

$\text{CH}_2)_s \text{NR}^{\text{N}1}$ のアミノポリエチレングリコール（式中、 s は、 $1 \sim 10$ （例えば、 $1 \sim 6$ または $1 \sim 4$ ）の整数であり、 s 2 および s 3 の各々は、独立して、 $0 \sim 10$ （例えば、 $0 \sim 4$ 、 $0 \sim 6$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 6$ 、または $1 \sim 10$ ）の整数であり、各 $\text{R}^{\text{N}1}$ は、独立して、水素であるか、または任意に置換される C_{1-6} アルキルである）からなる群から選択される）；ならびに（21）アミジン。いくつかの実施形態において、これらの基の各々は、本明細書に記載されるようにさらに置換され得る。

【0753】

本明細書で使用される時、「アミノアルコキシ」という用語は、本明細書に定義されるアミノ基によって置換された、本明細書に定義されるアルコキシ基を表す。アルキルおよびアミノは各々、それぞれの基について本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基（例えば、 $\text{CO}_2 \text{R}^{\text{A}1}$ （式中、 $\text{R}^{\text{A}1}$ は、（a） C_{1-6} アルキル、（b） C_{6-10} アリール、（c）水素、および（d） C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール、例えば、カルボキシからなる群から選択される））でさらに置換され得る。

10

【0754】

本明細書で使用される時、「アミノアルキル」という用語は、本明細書に定義されるアミノ基によって置換された、本明細書に定義されるアルキル基を表す。アルキルおよびアミノは各々、それぞれの基について本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基（例えば、 $\text{CO}_2 \text{R}^{\text{A}1}$ （式中、 $\text{R}^{\text{A}1}$ は、（a） C_{1-6} アルキル、（b） C_{6-10} アリール、（c）水素、および（d） C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール、例えば、カルボキシからなる群から選択される））でさらに置換され得る。

20

【0755】

本明細書で使用される時、「アリール」という用語は、1つまたは2つの芳香族環を有する単環式、二環式、または多環式の炭素環式環系を表し、フェニル、ナフチル、1,2-ジヒドロナフチル、1,2,3,4-テトラヒドロナフチル、アントラセニル、フェナントレニル、フルオレニル、インダニル、インデニル等により例として示され、次のものからなる群から独立して選択される1、2、3、4、または5個の置換基で任意に置換されてもよい：（1） C_{1-7} アシル（例えば、カルボキシアリデヒド）；（2） C_{1-20} アルキル（例えば、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ- C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルスルフィニル- C_{1-6} アルキル、アミノ- C_{1-6} アルキル、アジド- C_{1-6} アルキル、（カルボキシアリデヒド）- C_{1-6} アルキル、ハロ- C_{1-6} アルキル（例えば、ペルフルオロアルキル）、ヒドロキシ- C_{1-6} アルキル、ニトロ- C_{1-6} アルキル、または C_{1-6} チオアルコキシ- C_{1-6} アルキル）；（3） C_{1-20} アルコキシ（例えば、ペルフルオロアルコキシ等の C_{1-6} アルコキシ）；（4） C_{1-6} アルキルスルフィニル；（5） C_{6-10} アリール；（6）アミノ；（7） C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール；（8）アジド；（9） C_{3-8} シクロアルキル；（10） C_{1-6} アルク- C_{3-8} シクロアルキル；（11）ハロ；（12） C_{1-12} ヘテロシクリル（例えば、 C_{1-12} ヘテロアリール）；（13）（ C_{1-12} ヘテロシクリル）オキシ；（14）ヒドロキシ；（15）ニトロ；（16） C_{1-20} チオアルコキシ（例えば、 C_{1-6} チオアルコキシ）；（17）- $(\text{CH}_2)_q \text{CO}_2 \text{R}^{\text{A}1}$ （式中、 q は、 $0 \sim 4$ の整数であり、 $\text{R}^{\text{A}1}$ は、（a） C_{1-6} アルキル、（b） C_{6-10} アリール、（c）水素、および（d） C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリールからなる群から選択される）；（18）- $(\text{CH}_2)_q \text{CONR}^{\text{B}1} \text{R}^{\text{C}1}$ （式中、 q は、 $0 \sim 4$ の整数であり、 $\text{R}^{\text{B}1}$ および $\text{R}^{\text{C}1}$ は、（a）水素、（b） C_{1-6} アルキル、（c） C_{6-10} アリール、および（d） C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリールからなる群から独立して選択される）；（19）- $(\text{CH}_2)_q \text{SO}_2 \text{R}^{\text{D}1}$ （式中、 q は、 $0 \sim 4$ の整数であり、 $\text{R}^{\text{D}1}$ は、（a）アルキル、（b） C_{6-10} アリール、および（c）アルク- C_{6-10} アリールからなる群から選択される）；（20）- $(\text{CH}_2)_q \text{SO}_2 \text{NR}^{\text{E}1} \text{R}^{\text{F}1}$ （式中、 q は、 $0 \sim 4$ の整数であり、 $\text{R}^{\text{E}1}$ および $\text{R}^{\text{F}1}$ の各々は、独立して、（a）水素、（b） C_{1-6} アルキル、（c） C_{6-10} アリール、および（d） C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリールからなる群から選択される）；（21）チオール；（22） C_{6-10} ア

30

40

50

リールオキシ；(23) $C_3 - 8$ シクロアルコキシ；(24) $C_6 - 10$ アリール- $C_1 - 6$ アルコキシ；(25) $C_1 - 6$ アルク- $C_1 - 12$ ヘテロシクリル（例えば、 $C_1 - 6$ アルク- $C_1 - 12$ ヘテロアリール）；(26) $C_2 - 20$ アルケニル；ならびに(27) $C_2 - 20$ アルキニル。いくつかの実施形態において、これらの基の各々は、本明細書に記載されるようにさらに置換され得る。例えば、 C_1 -アルカリールまたは C_1 -アルクヘテロシクリルのアルキレン基は、オキシ基でさらに置換されて、それぞれのアリーロイルおよび（ヘテロシクリル）オイル置換基をもたらすことができる。

【0756】

本明細書で使用されるとき、「アリールアルコキシ」という用語は、酸素原子を介して親分子基に結合される、本明細書に定義されるアルカリール基を表す。例示の非置換アルコキシアルキル基は、7～30個の炭素（例えば、 $C_6 - 10$ アリール- $C_1 - 6$ アルコキシ、 $C_6 - 10$ アリール- $C_1 - 10$ アルコキシ、または $C_6 - 10$ アリール- $C_1 - 20$ アルコキシ等の、7～16または7～20個の炭素）を含む。いくつかの実施形態において、アリールアルコキシ基は、本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基で置換され得る。

10

【0757】

「アリールオキシ」という用語は、式-OR'の化学置換基を表し、式中、R'は、別途明記されない限り、6～18個の炭素のアリール基である。いくつかの実施形態において、アリール基は、本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基で置換され得る。

20

【0758】

本明細書で使用されるとき、「アリーロイル」という用語は、カルボニル基を介して親分子基に結合される、本明細書に定義されるアリール基を表す。例示の非置換アリーロイル基は、7～11個の炭素のものである。いくつかの実施形態において、アリール基は、本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基で置換され得る。

【0759】

「アジド」という用語は、 $-N_3$ 基を表し、それは、 $-N=N=N$ としても表され得る。

【0760】

本明細書で使用されるとき、「二環式」という用語は、芳香族でも非芳香族でもあり得る2つの環を有する構造を指す。二環式構造には、本明細書に定義されるスピロシクリル基、および1つ以上の架橋を共有する2つの環が含まれ、そのような架橋は、1個の原子、または2個、3個、もしくはそれよりも多い原子を含む鎖を含むことができる。例示の二環式基には、二環式カルボシクリル基（その第1および第2の環は、本明細書に定義されるカルボシクリル基である）；二環式アリール基（その第1および第2の環は、本明細書に定義されるアリール基である）；二環式ヘテロシクリル基（その第1の環は、ヘテロシクリル基であり、第2の環は、カルボシクリル（例えば、アリール）またはヘテロシクリル（例えば、ヘテロアリール）基である）；および二環式ヘテロアリール基（その第1の環は、ヘテロアリール基であり、第2の環は、カルボシクリル（例えば、アリール）またはヘテロシクリル（例えば、ヘテロアリール）基である）が含まれる。いくつかの実施形態において、二環式基は、シクロアルキル、ヘテロシクリル、およびアリール基について本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基で置換され得る。

30

40

【0761】

本明細書で使用されるとき、「炭素環式」および「カルボシクリル」という用語は、芳香族でも非芳香族でもあり得る環が炭素原子によって形成される、任意に置換される $C_3 - 12$ 単環式、二環式、または三環式構造を指す。炭素環式構造には、シクロアルキル、シクロアルケニル、およびアリール基が含まれる。

【0762】

本明細書で使用されるとき、「カルバモイル」という用語は、 $-C(O)-N(R^{N1})_2$ を表し、式中、各 R^{N1} の意味は、本明細書に提供される「アミノ」の定義において

50

見出される。

【0763】

本明細書で使用されるとき、「カルバモイルアルキル」という用語は、本明細書に定義されるカルバモイル基によって置換された、本明細書に定義されるアルキル基を表す。アルキル基は、本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

【0764】

本明細書で使用されるとき、「カルバミル」という用語は、構造 $-NR^{N-1}C(=O)OR$ または $-OC(=O)N(R^{N-1})_2$ を有するカルバメート基を指し、式中、各 R^{N-1} の意味は、本明細書に提供される「アミノ」の定義において見出され、Rは、本明細書に定義されるアルキル、シクロアルキル、アルクシクロアルキル、アリール、アルカリール、ヘテロシクリル（例えば、ヘテロアリール）、またはアルクヘテロシクリル（例えば、アルクヘテロアリール）である。

10

【0765】

本明細書で使用されるとき、「カルボニル」という用語は、 $C(O)$ 基を表し、それは、 $C=O$ としても表され得る。

【0766】

「カルボキシアルデヒド」という用語は、構造 $-CHO$ を有するアシル基を表す。

【0767】

本明細書で使用されるとき、「カルボキシ」という用語は、 $-CO_2H$ を意味する。

【0768】

本明細書で使用されるとき、「カルボキシアルコキシ」という用語は、本明細書に定義されるカルボキシ基によって置換された、本明細書に定義されるアルコキシ基を表す。アルコキシ基は、アルキル基について本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

20

【0769】

本明細書で使用されるとき、「カルボキシアルキル」という用語は、本明細書に定義されるカルボキシ基によって置換された、本明細書に定義されるアルキル基を表す。アルキル基は、本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

【0770】

本明細書で使用されるとき、「シアノ」という用語は、 $-CN$ 基を表す。

30

【0771】

「シクロアルコキシ」という用語は、式 $-OR$ の化学置換基を表し、式中、Rは、別途明記されない限り、本明細書に定義される C_3-8 シクロアルキル基である。シクロアルキル基は、本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。例示の非置換シクロアルコキシ基は、3～8個の炭素である。いくつかの実施形態において、シクロアルキル基は、本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

【0772】

本明細書で使用されるとき、「シクロアルキル」という用語は、別途明記されない限り、3～8個の炭素の一価の飽和または不飽和非芳香族環状炭化水素基を表し、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、ビシクロ[2.2.1.]ヘプチル等により例として示される。シクロアルキル基が1つの炭素-炭素二重結合を含むとき、シクロアルキル基は、「シクロアルケニル」基と称され得る。例示のシクロアルケニル基には、シクロペンテニル、シクロヘキセニル等が含まれる。本発明のシクロアルキル基は、次のもので任意に置換され得る：(1) C_{1-7} アシル（例えば、カルボキシアルデヒド）；(2) C_{1-20} アルキル（例えば、 C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルコキシ- C_{1-6} アルキル、 C_{1-6} アルキルスルフィニル- C_{1-6} アルキル、アミノ- C_{1-6} アルキル、アジド- C_{1-6} アルキル、（カルボキシアルデヒド）- C_{1-6} アルキル、ハロ- C_{1-6} アルキル（例えば、ペルフルオロアルキル）、ヒドロキシ- C_{1-6} アルキル、ニトロ- C_{1-6} アルキル、または C_{1-6} チオアルコキシ

40

50

$-C_{1-6}$ アルキル) ; (3) C_{1-20} アルコキシ (例えば、ペルフルオロアルコキシ等の C_{1-6} アルコキシ) ; (4) C_{1-6} アルキルスルフィニル ; (5) C_{6-10} アリール ; (6) アミノ ; (7) C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリール ; (8) アジド ; (9) C_{3-8} シクロアルキル ; (10) C_{1-6} アルク- C_{3-8} シクロアルキル ; (11) ハロ ; (12) C_{1-12} ヘテロシクリル (例えば、 C_{1-12} ヘテロアリール) ; (13) (C_{1-12} ヘテロシクリル) オキシ ; (14) ヒドロキシ ; (15) ニトロ ; (16) C_{1-20} チオアルコキシ (例えば、 C_{1-6} チオアルコキシ) ; (17) $-(CH_2)_q CO_2 R^A$ (式中、 q は、0~4 の整数であり、 R^A は、(a) C_{1-6} アルキル、(b) C_{6-10} アリール、(c) 水素、および (d) C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリールからなる群から選択される) ; (18) $-(CH_2)_q CONR^B R^C$ (式中、 q は、0~4 の整数であり、 R^B および R^C は、(a) 水素、(b) C_{6-10} アルキル、(c) C_{6-10} アリール、および (d) C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリールからなる群から独立して選択される) ; (19) $-(CH_2)_q SO_2 R^D$ (式中、 q は、0~4 の整数であり、 R^D は、(a) C_{6-10} アルキル、(b) C_{6-10} アリール、および (c) C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリールからなる群から選択される) ; (20) $-(CH_2)_q SO_2 NR^E R^F$ (式中、 q は、0~4 の整数であり、 R^E および R^F の各々は、独立して、(a) 水素、(b) C_{6-10} アルキル、(c) C_{6-10} アリール、および (d) C_{1-6} アルク- C_{6-10} アリールからなる群から選択される) ; (21) チオール ; (22) C_{6-10} アリールオキシ ; (23) C_{3-8} シクロアルコキシ ; (24) C_{6-10} アリール- C_{1-6} アルコキシ ; (25) C_{1-6} アルク- C_{1-12} ヘテロシクリル (例えば、 C_{1-6} アルク- C_{1-12} ヘテロアリール) ; (26) オキソ ; (27) C_{2-20} アルケニル ; ならびに (28) C_{2-20} アルキニル。いくつかの実施形態において、これらの基の各々は、本明細書に記載されるようにさらに置換され得る。例えば、 C_1 -アルカリールまたは C_1 -アルクヘテロシクリルのアルキレン基は、オキソ基でさらに置換されて、それぞれのアリーロイルおよび (ヘテロシクリル) オイル置換基をもたらすことができる。

【0773】

本明細書で使用されるとき、「ジアステレオマー」という用語は、互いの鏡像でなく、互いの上に重ね合わせ不可能である、立体異性体を意味する。

【0774】

本明細書で使用されるとき、本明細書で使用される薬剤の「有効量」は、有益なまたは所望の結果、例えば、臨床結果をもたらすのに十分な量であり、したがって、「有効量」は、それが適用されている前後関係に依存する。例えば、癌を治療する薬剤を投与することの前後関係において、有効量の薬剤は、例えば、薬剤の投与を伴わずに得られる反応と比較して、本明細書に定義される癌の治療を達成するのに十分な量である。

【0775】

本明細書で使用されるとき、「鏡像異性体」という用語は、少なくとも80% (すなわち、一方の鏡像異性体が少なくとも90%および他方の鏡像異性体が多くても10%)、好ましくは少なくとも90%、より好ましくは少なくとも98%の光学純度または鏡像異性体過剰率 (当技術分野で標準の方法によって決定するとき) を有する、本発明の化合物の各個々の光学活性型を意味する。

【0776】

本明細書で使用されるとき、「ハロ」という用語は、臭素、塩素、ヨウ素、またはフッ素から選択されるハロゲンを表す。

【0777】

本明細書で使用されるとき、「ハロアルコキシ」という用語は、ハロゲン基 (すなわち、F、Cl、Br、またはI) によって置換された、本明細書に定義されるアルコキシ基を表す。ハロアルコキシは、1、2、3個のハロゲンで、または2個以上の炭素のアルキル基の場合には4個のハロゲンで置換されてもよい。ハロアルコキシ基には、ペルフルオロアルコキシ (例えば、 $-OCF_3$)、 $-OCHF_2$ 、 $-OCH_2F$ 、 $-OCCl_3$ 、-

$\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br})\text{CH}_3$ 、および $-\text{OCHI}\text{CH}_3$ が含まれる。いくつかの実施形態において、ハロアルコキシ基は、アルキル基について本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

【0778】

本明細書で使用される時、「ハロアルキル」という用語は、ハロゲン基（すなわち、F、Cl、Br、またはI）によって置換された、本明細書に定義されるアルキル基を表す。ハロアルキルは、1、2、3個のハロゲンで、または2個以上の炭素のアルキル基の場合には4個のハロゲンで置換されてもよい。ハロアルキル基には、ペルフルオロアルキル（例えば、 $-\text{CF}_3$ ）、 $-\text{CHF}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{F}$ 、 $-\text{CCl}_3$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br})\text{CH}_3$ 、および $-\text{CHI}\text{CH}_3$ が含まれる。いくつかの実施形態において、ハロアルキル基は、アルキル基について本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

10

【0779】

本明細書で使用される時、「ヘテロアルキレン」という用語は、構成炭素原子のうちの1個または2個が各々、窒素、酸素、または硫黄によって置き換えられた、本明細書に定義されるアルキレン基を指す。いくつかの実施形態において、ヘテロアルキレン基は、アルキレン基について本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

【0780】

本明細書で使用される時、「ヘテロアリール」という用語は、芳香族である、本明細書に定義されるヘテロシクリルの部分集合を表し、すなわち、それらは単環式または多環式環系内に $4n+2$ 個の π 電子を含有する。例示の非置換ヘテロアリール基は、1～12個（例えば、1～11、1～10、1～9、2～12、2～11、2～10、または2～9個）の炭素のものである。いくつかの実施形態において、ヘテロアリールは、ヘテロシクリル基について定義される1、2、3、または4個の置換基で置換される。

20

【0781】

本明細書で使用される時、「ヘテロシクリル」という用語は、別途明記されない限り、窒素、酸素、および硫黄からなる群から独立して選択される1、2、3、または4個のヘテロ原子を含有する、5、6、または7員環を表す。5員環は、0～2つの二重結合を有し、6および7員環は、0～3つの二重結合を有する。例示の非置換ヘテロシクリル基は、1～12個（例えば、1～11、1～10、1～9、2～12、2～11、2～10、または2～9個）の炭素のものである。「ヘテロシクリル」という用語は、1個以上の炭素および／またはヘテロ原子が単環式環の2つの隣接していない員を架橋する、架橋多環式構造を有する複素環式化合物、例えば、キヌクリジニル基も表す。「ヘテロシクリル」という用語は、上記の複素環式環のうちのいずれかが1、2、もしくは3つの炭素環式環、例えば、アリール環、シクロヘキサン環、シクロヘキセン環、シクロペンタン環、シクロペンテン環、またはインドリル、キノリル、イソキノリル、テトラヒドロキノリル、ベンゾフリル、ベンゾチエニル等の別の単環式の複素環式環に縮合される、二環式、三環式、および四環式基を含む。縮合ヘテロシクリルの例としては、トロパンおよび1, 2, 3, 5, 8, 8a-ヘキサヒドロインドリジンが挙げられる。複素環には、ピロリル、ピロリニル、ピロリジニル、ピラゾリル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピリジリル、ピペリジニル、ホモピペリジニル、ピラジニル、ピペラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、オキサゾリル、オキサゾリジニル、イソオキサゾリル、イソオキサゾリジニル、モルホリニル、チオモルホリニル、チアゾリル、チアゾリジニル、イソチアゾリル、イソチアゾリジニル、インドリル、インダゾリル、キノリル、イソキノリル、キノキサリニル、ジヒドロキノキサリニル、キナゾリニル、シノリニル、フタラジニル、ベンズイミダゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾチアジアゾリル、フリル、チエニル、チアゾリジニル、イソチアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、オキサジアゾリル（例えば、1, 2, 3-オキサジアゾリル）、プリニル、チアジアゾリル（例えば、1, 2, 3-チアジアゾリル）、テトラヒドロ

30

40

50

フラニル、ジヒドロフラニル、テトラヒドロチエニル、ジヒドロチエニル、ジヒドロインドリル、ジヒドロキノリル、テトラヒドロキノリル、テトラヒドロイソキノリル、ジヒドロイソキノリル、ピラニル、ジヒドロピラニル、ジチアゾリル、ベンゾフラニル、イソベンゾフラニル、ベンゾチエニル等が含まれ、1つ以上の二重結合が還元され、水素と置き換えられる、それらのジヒドロおよびテトラヒドロ形態を含む。さらに他の例示のヘテロシクリルには、2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-2-オキソ-オキサゾリル; 2, 3-ジヒドロ-2-オキソ-1H-イミダゾリル; 2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-5-オキソ-1H-ピラゾリル (例えば、2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-2-フェニル-5-オキソ-1H-ピラゾリル); 2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-2, 4-ジオキソ-1H-イミダゾリル (例えば、2, 3, 4, 5-テトラヒドロ-2, 4-ジオキソ-5-メチル-5-フェニル-1H-イミダゾリル); 2, 3-ジヒドロ-2-チオキソ-1, 3, 4-オキサジアゾリル (例えば、2, 3-ジヒドロ-2-チオキソ-5-フェニル-1, 3, 4-オキサジアゾリル); 4, 5-ジヒドロ-5-オキソ-1H-トリアゾリル (例えば、4, 5-ジヒドロ-3-メチル-4-アミノ-5-オキソ-1H-トリアゾリル); 1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-2, 4-ジオキソピリジニル (例えば、1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-2, 4-ジオキソ-3, 3-ジエチルピリジニル); 2, 6-ジオキソペリジニル (例えば、2, 6-ジオキソ-3-エチル-3-フェニルペリジニル); 1, 6-ジヒドロ-6-オキソピリジミニル; 1, 6-ジヒドロ-4-オキソピリミジニル (例えば、2-(メチルチオ)-1, 6-ジヒドロ-4-オキソ-5-メチルピリミジン-1-イル); 1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-2, 4-ジオキソピリミジニル (例えば、1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-2, 4-ジオキソ-3-エチルピリミジニル); 1, 6-ジヒドロ-6-オキソピリダジニル (例えば、1, 6-ジヒドロ-6-オキソ-3-エチルピリダジニル); 1, 6-ジヒドロ-6-オキソ-1, 2, 4-トリアジニル (例えば、1, 6-ジヒドロ-5-イソプロピル-6-オキソ-1, 2, 4-トリアジニル); 2, 3-ジヒドロ-2-オキソ-1H-インドリル (例えば、3, 3-ジメチル-2, 3-ジヒドロ-2-オキソ-1H-インドリルおよび2, 3-ジヒドロ-2-オキソ-3, 3'-スピロプロパン-1H-インドール-1-イル); 1, 3-ジヒドロ-1-オキソ-2H-イソ-インドリル; 1, 3-ジヒドロ-1, 3-ジオキソ-2H-イソ-インドリル; 1H-ベンゾピラゾリル (例えば、1-(エトキシカルボニル)-1H-ベンゾピラゾリル); 2, 3-ジヒドロ-2-オキソ-1H-ベンズイミダゾリル (例えば、3-エチル-2, 3-ジヒドロ-2-オキソ-1H-ベンズイミダゾリル); 2, 3-ジヒドロ-2-オキソ-ベンゾオキサゾリル (例えば、5-クロロ-2, 3-ジヒドロ-2-オキソ-ベンゾオキサゾリル); 2, 3-ジヒドロ-2-オキソ-ベンゾオキサゾリル; 2-オキソ-2H-ベンゾピラニル; 1, 4-ベンゾジオキサニル; 1, 3-ベンゾジオキサニル; 2, 3-ジヒドロ-3-オキソ, 4H-1, 3-ベンゾチアジニル; 3, 4-ジヒドロ-4-オキソ-3H-キナゾリニル (例えば、2-メチル-3, 4-ジヒドロ-4-オキソ-3H-キナゾリニル); 1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-2, 4-ジオキソ-3H-キナゾリル (例えば、1-エチル-1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-2, 4-ジオキソ-3H-キナゾリル); 1, 2, 3, 6-テトラヒドロ-2, 6-ジオキソ-7H-プリニル (例えば、1, 2, 3, 6-テトラヒドロ-1, 3-ジメチル-2, 6-ジオキソ-7H-プリニル); 1, 2, 3, 6-テトラヒドロ-2, 6-ジオキソ-1H-プリニル (例えば、1, 2, 3, 6-テトラヒドロ-3, 7-ジメチル-2, 6-ジオキソ-1H-プリニル); 2-オキソベンズ[c, d]インドリル; 1, 1-ジオキソ-2H-ナフト[1, 8-c, d]イソチアゾリル; および1, 8-ナフチレンジカルボキサミドが含まれる。さらなる複素環には、3, 3a, 4, 5, 6, 6a-ヘキサヒドロピロロ[3, 4-b]ピロ[1-(2H)]-イル、および2, 5-ジアザビシクロ[2.2.1]ヘプタン-2-イル、ホモペラジニル (またはジアゼパニル)、テトラヒドロピラニル、ジチアゾリル、ベンゾフラニル、ベンゾチエニル、オキセパニル、チエパニル、アゾカニル、オキセカニル、およびチオカニルが含まれる。複素環基は、式:

【0782】

10

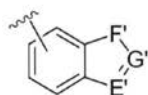
20

30

40

50

【化 1】



の基も含み、式中、

【0783】

E' は、-N- および -CH- からなる群から選択され、F' は、-N=CH-、-NH-CH₂-、-NH-C(O)-、-NH-、-CH=N-、-CH₂-NH-、-C(O)-NH-、-CH=CH-、-CH₂-、-CH₂CH₂-、-CH₂O-、-OCH₂-、-O-、および -S- からなる群から選択され、G' は、-CH- および -N- からなる群から選択される。本明細書で言及されるヘテロシクリル基のうちのいずれかは、次のものからなる群から独立して選択される1、2、3、4、または5個の置換基で任意に置換されてもよい：(1) C₁₋₇ アシル (例えば、カルボキシアルデヒド)；(2) C₁₋₂₀ アルキル (例えば、C₁₋₆ アルキル、C₁₋₆ アルコキシ-C₁₋₆ アルキル、C₁₋₆ アルキルスルフィニル-C₁₋₆ アルキル、アミノ-C₁₋₆ アルキル、アジド-C₁₋₆ アルキル、(カルボキシアルデヒド)-C₁₋₆ アルキル、ハロ-C₁₋₆ アルキル (例えば、ペルフルオロアルキル)、ヒドロキシ-C₁₋₆ アルキル、ニトロ-C₁₋₆ アルキル、または C₁₋₆ チオアルコキシ-C₁₋₆ アルキル)；(3) C₁₋₂₀ アルコキシ (例えば、ペルフルオロアルコキシ等の C₁₋₆ アルコキシ)；(4) C₁₋₆ アルキルスルフィニル；(5) C₆₋₁₀ アリール；(6) アミノ；(7) C₁₋₆ アルク-C₆₋₁₀ アリール；(8) アジド；(9) C₃₋₈ シクロアルキル；(10) C₁₋₆ アルク-C₃₋₈ シクロアルキル；(11) ハロ；(12) C₁₋₁₂ ヘテロシクリル (例えば、C₂₋₁₂ ヘテロアリール)；(13) (C₁₋₁₂ ヘテロシクリル) オキシ；(14) ヒドロキシ；(15) ニトロ；(16) C₁₋₂₀ チオアルコキシ (例えば、C₁₋₆ チオアルコキシ)；(17) -(CH₂)_q CO₂ R^{A'} (式中、q は、0~4 の整数であり、R^{A'} は、(a) C₁₋₆ アルキル、(b) C₆₋₁₀ アリール、(c) 水素、および (d) C₁₋₆ アルク-C₆₋₁₀ アリールからなる群から選択される)；(18) -(CH₂)_q CONR^{B'} R^{C'} (式中、q は、0~4 の整数であり、R^{B'} および R^{C'} は、(a) 水素、(b) C₁₋₆ アルキル、(c) C₆₋₁₀ アリール、および (d) C₁₋₆ アルク-C₆₋₁₀ アリールからなる群から独立して選択される)；(19) -(CH₂)_q SO₂ R^{D'} (式中、q は、0~4 の整数であり、R^{D'} は、(a) C₁₋₆ アルキル、(b) C₆₋₁₀ アリール、および (c) C₁₋₆ アルク-C₆₋₁₀ アリールからなる群から選択される)；(20) -(CH₂)_q SO₂ NR^{E'} R^{F'} (式中、q は、0~4 の整数であり、R^{E'} および R^{F'} の各々は、独立して、(a) 水素、(b) C₁₋₆ アルキル、(c) C₆₋₁₀ アリール、および (d) C₁₋₆ アルク-C₆₋₁₀ アリールからなる群から選択される)；(21) チオール；(22) C₆₋₁₀ アリールオキシ；(23) C₃₋₈ シクロアルコキシ；(24) アリールアルコキシ；(25) C₁₋₆ アルク-C₁₋₁₂ ヘテロシクリル (例えば、C₁₋₆ アルク-C₁₋₁₂ ヘテロアリール)；(26) オキソ；(27) (C₁₋₁₂ ヘテロシクリル) イミノ；(28) C₂₋₂₀ アルケニル；ならびに (29) C₂₋₂₀ アルキニル。いくつかの実施形態において、これらの基の各々は、本明細書に記載されるようにさらに置換され得る。例えば、C₁-アルカリールまたは C₁-アルクヘテロシクリルのアルキレン基は、オキソ基でさらに置換されて、それぞれのアリーロイルおよび (ヘテロシクリル) オイル置換基をもたらすことができる。

【0784】

本明細書で使用されるとき、「(ヘテロシクリル) イミノ」という用語は、イミノ基を介して親分子基に結合される、本明細書に定義されるヘテロシクリル基を表す。いくつかの実施形態において、ヘテロシクリル基は、本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基で置換され得る。

【0785】

本明細書で使用されるとき、「(ヘテロシクリル) オキシ」という用語は、酸素原子を介して親分子基に結合される、本明細書に定義されるヘテロシクリル基を表す。いくつかの実施形態において、ヘテロシクリル基は、本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基で置換され得る。

【0786】

本明細書で使用されるとき、「(ヘテロシクリル) オイル」という用語は、カルボニル基を介して親分子基に結合される、本明細書に定義されるヘテロシクリル基を表す。いくつかの実施形態において、ヘテロシクリル基は、本明細書に定義される1、2、3、または4個の置換基で置換され得る。

【0787】

本明細書で使用されるとき、「炭化水素」という用語は、炭素および水素原子のみからなる基を表す。

【0788】

本明細書で使用されるとき、「ヒドロキシ」という用語は、 $-OH$ 基を表す。

【0789】

本明細書で使用されるとき、「ヒドロキシアルケニル」という用語は、1～3個のヒドロキシ基によって置換された、本明細書に定義されるアルケニル基を表すが、但し、1個を超えるヒドロキシ基がアルキル基の単一の炭素原子に結合することはないことを条件とし、それはジヒドロキシプロペニル、ヒドロキシイソペンテニル等により例として示される。

【0790】

本明細書で使用されるとき、「ヒドロキシアルキル」という用語は、1～3個のヒドロキシ基によって置換された、本明細書に定義されるアルキル基を表すが、但し、1個を超えるヒドロキシ基が、アルキル基の単一の炭素原子に結合することはないことを条件とし、それはヒドロキシメチル、ジヒドロキシプロピル等により例として示される。

【0791】

本明細書で使用されるとき、「異性体」という用語は、本発明の化合物のいずれかの任意の互変異性体、立体異性体、鏡像異性体、またはジアステレオマーを意味する。本発明の化合物は、1つ以上のキラル中心および／または二重結合を有することができ、したがって、二重結合異性体（すなわち、幾何E/Z異性体）またはジアステレオマー（例えば、鏡像異性体（すなわち、(+)または(-)）またはシス/トランス異性体）等の立体異性体として存在し得ることが認識される。本発明に従って、本明細書に描写される化学構造、したがって本発明の化合物は、対応する立体異性体のすべて、つまり、立体異性的に純粋な形態（例えば、幾何的に純粋、鏡像異性的に純粋、またはジアステレオマー的に純粋）と、鏡像異性体混合物および立体異性体混合物、例えば、ラセミ体との両方を包含する。本発明の化合物の鏡像異性体混合物および立体異性体混合物は、キラル相ガスクロマトグラフィー、キラル相高性能液体クロマトグラフィー、キラル塩錯体としての化合物の結晶化、またはキラル溶媒中の化合物の結晶化等の周知の方法によって、典型的にそれらの構成要素の鏡像異性体または立体異性体へと分解することができる。鏡像異性体および立体異性体は、周知の不斉合成法によって、立体異性的または鏡像異性的に純粋な中間体、試薬、および触媒からも得ることができる。

【0792】

本明細書で使用されるとき、「N保護アミノ」という用語は、本明細書に定義される1つまたは2つのN保護基に結合している、本明細書に定義されるアミノ基を指す。

【0793】

本明細書で使用されるとき、「N保護基」という用語は、合成手順中に、望ましくない反応に対してアミノ基を保護するよう意図される基を表す。一般的に使用されるN保護基は、参照により本明細書に組み込まれる、Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis," 3rd Edition (John Wiley & Sons, New York, 1999)に開示されている。N保護基には、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ピバロイル、*t*-ブチルアセチル、2-クロロアセチル、2-ブロモアセチル、トリフルオロアセチル、トリクロロアセチル、フタリル、*o*-ニトロフェノキシアセチル、 α -クロロブチリル、ベンゾイル、4-クロロベンゾイル、4-ブロモベンゾイル、4-ニトロベンゾイル等の、アシル、アリーロイル、またはカルバミル基、および保護されたまたは保護されないD、L、またはD等のキラル助剤、アラニン、ロイシン、フェニルアラニン等のL-アミノ酸；ベンゼンスルホニル、*p*-トルエンスルホニル等のスルホニル含有基；ベンジルオキシカルボニル、*p*-クロロベンジルオキシカルボニル、*p*-メトキシベンジルオキシカルボニル、*p*-ニトロベンジルオキシカルボニル、2-ニトロベンジルオキシカルボニル、*p*-ブロモベンジルオキシカルボニル、3, 4-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、3, 5-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、2, 4-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-ニトロ-4, 5-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、3, 4, 5-トリメトキシベンジルオキシカルボニル、1-(*p*-ビフェニル)-1-メチルエトキシカルボニル、 α , α -ジメチル-3, 5-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、ベンズヒドリルオキシカルボニル、*t*-ブチルオキシカルボニル、ジイソプロピルメトキシカルボニル、イソプロピルオキシカルボニル、エトキシカルボニル、メトキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、フェノキシカルボニル、4-ニトロフェノキシカルボニル、フルオレニル-9-メトキシカルボニル、シクロペンチルオキシカルボニル、アダマンチルオキシカルボニル、シクロヘキシルオキシカルボニル、フェニルチオカルボニル等のカルバメート形成基、ベンジル、トリフェニルメチル、ベンジルオキシメチル等のアルカリール基、ならびにトリメチルシリル等のシリル基が含まれる。好ましいN保護基は、ホルミル、アセチル、ベンゾイル、ピバロイル、*t*-ブチルアセチル、アラニル、フェニルスルホニル、ベンジル、*t*-ブチルオキシカルボニル (Boc)、およびベンジルオキシカルボニル (Cbz) である。

10

20

30

【0794】

本明細書で使用されるとき、「ニトロ」という用語は、-NO₂基を表す。

【0795】

本明細書で使用されるとき、「オキソ」という用語、=Oを表す。

【0796】

本明細書で使用されるとき、「ペルフルオロアルキル」という用語は、アルキル基に結合した各水素ラジカルがフッ化物ラジカルによって置き換えられた、本明細書に定義されるアルキル基を表す。ペルフルオロアルキル基は、トリフルオロメチル、ペンタフルオロエチル等により例として示される。

【0797】

本明細書で使用されるとき、「ペルフルオロアルコキシ」という用語は、アルコキシ基に結合した各水素ラジカルがフッ化物ラジカルによって置き換えられた、本明細書に定義されるアルコキシ基を表す。ペルフルオロアルコキシ基は、トリフルオロメトキシ、ペンタフルオロエトキシ等により例として示される。

40

【0798】

本明細書で使用されるとき、「スピロシクリル」という用語は、その両端が親基の同じ炭素原子に結合してスピロ環式基を形成するC₂-₇アルキレンジラジカル、およびまた、その両端が同じ炭素原子に結合するC₁-₆ヘテロアルキレンジラジカルを表す。スピロシクリル基を形成するヘテロアルキレンラジカルは、窒素、酸素、および硫黄からなる群から独立して選択される1、2、3、または4個のヘテロ原子を含有することができる

50

。いくつかの実施形態において、スピロシクリル基は、そのジラジカルが結合する炭素原子を除いて、1～7個の炭素を含む。本発明のスピロシクリル基は、シクロアルキル基および／またはヘテロシクリル基に対する任意の置換基として本明細書に提供される1、2、3、または4個の置換基で任意に置換されてもよい。

【0799】

本明細書で使用されるとき、「立体異性体」という用語は、化合物（例えば、本明細書に記載の任意の式の化合物）が有し得るすべての可能性のある様々な異性型ならびに立体配座型、特にすべての可能性のある立体化学的および立体配座的異性型、基本的な分子構造のすべてのジアステレオマー、鏡像異性体、および／または配座異性体を指す。本発明のいくつかの化合物は、異なる互変異性型として存在してもよく、後者のすべてが本発明の範囲内に含まれる。

10

【0800】

本明細書で使用されるとき、「スルホアルキル」という用語は、 $-SO_3H$ のスルホ基によって置換された、本明細書に定義されるアルキル基を表す。いくつかの実施形態において、アルキル基は、本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

【0801】

本明細書で使用されるとき、「スルホニル」という用語は、 $-S(O)_2-$ 基を表す。

【0802】

本明細書で使用されるとき、「チオアルカリール」という用語は、式 $-SR$ の化学置換基を表し、式中、Rは、アルカリール基である。いくつかの実施形態において、アルカリール基は、本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

20

【0803】

本明細書で使用されるとき、「チオアルクヘテロシクリル」という用語は、式 $-SR$ の化学置換基を表し、式中、Rは、アルクヘテロシクリル基である。いくつかの実施形態において、アルクヘテロシクリル基は、本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

【0804】

本明細書で使用されるとき、「チオアルコキシ」という用語は、式 $-SR$ の化学置換基を表し、式中、Rは、本明細書に定義されるアルキル基である。いくつかの実施形態において、アルキル基は、本明細書に記載の1、2、3、または4個の置換基でさらに置換され得る。

30

【0805】

「チオール」という用語は、 $-SH$ 基を表す。

【0806】

化合物：本明細書で使用されるとき、「化合物」という用語は、描写される構造のすべての立体異性体、幾何異性体、互変異性体、および同位体を含むことが意図される。

【0807】

本明細書に記載の化合物は、不斉であり得る（例えば、1つ以上の立体中心を有する）。別途指定されない限り、鏡像異性体およびジアステレオマー等の、すべての立体異性体が意図される。不斉置換炭素原子を含有する本開示の化合物は、光学活性型またはラセミ型で単離することができる。光学活性型を光学活性の出発物質からどのように調製するかに関する方法は、ラセミ混合物の分解によって、または立体選択的合成によって等、当技術分野で知られている。オレフィンの多くの幾何異性体、 $C=N$ 二重結合等もまた、本発明に記載の化合物中に存在することができ、すべてのそのような安定な異性体の本開示において意図される。本開示の化合物のシスおよびトランス幾何異性体が記載され、それは異性体の混合物としてまたは分離した異性型として単離され得る。

40

【0808】

本開示の化合物は、互変異性型も含む。互変異性型は、単結合の隣位二重結合との交換、およびプロトンの付随する移動からもたらされる。互変異性型は、同じ実験式および総

50

電荷を有する異性体プロトン化状態である、プロトン互変異性体 (prototropic tautomers) を含む。例示のプロトン互変異性体には、ケトン-エノール対、アミド-イミド酸対、ラクタム-ラクチム対、アミド-イミド酸対、エナミン-イミン対、およびプロトンが複素環式系の2つ以上の位置を占有し得る環状型、例えば、1H-および3H-イミダゾール、1H-、2H-、および4H-1, 2, 4-トリアゾール、1H-および2H-イソインドール、ならびに1H-および2H-ピラゾールが含まれる。互変異性型は、平衡し得るか、または適切な置換によって1つの形態へと立体的に固定され得る。

【0809】

本開示の化合物は、中間体または最終化合物中で生じる原子の同位体もすべて含む。「同位体」は、同じ原子番号を有するが、核内の中性子の数が異なることに起因して異なる質量数を有する、原子を指す。例えば、水素の同位体には、トリチウムおよびジウテリウムが含まれる。

10

【0810】

本開示の化合物および塩は、通例の方法によって、溶媒または水分子と組み合わせて溶媒和物および水和物を形成することにより調製することができる。

【0811】

状態：本明細書で使用されるとき、「状態」という用語は、観察可能な症状と一緒に現れる障害を指す。

【0812】

保存される：本明細書で使用されるとき、「保存される」という用語は、比較されている2つ以上の配列の同じ位置において変化することなく生じる残基である、それぞれ、ポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列のヌクレオチド残基またはアミノ酸残基を指す。比較的保存されているヌクレオチドまたはアミノ酸は、配列内の他の箇所に現れるヌクレオチドまたはアミノ酸よりも関連した配列の間で保存されているものである。

20

【0813】

いくつかの実施形態において、2つ以上の配列は、それらが互いに100%同一である場合、「完全に保存される」と言われる。いくつかの実施形態において、2つ以上の配列は、それらが互いに少なくとも70%同一、少なくとも80%同一、少なくとも90%同一、または少なくとも95%同一である場合、「高度に保存される」と言われる。いくつかの実施形態において、2つ以上の配列は、それらが互いに約70%同一、約80%同一、約90%同一、約95%、約98%、または約99%同一である場合、「高度に保存される」と言われる。いくつかの実施形態において、2つ以上の配列は、それらが互いに少なくとも30%同一、少なくとも40%同一、少なくとも50%同一、少なくとも60%同一、少なくとも70%同一、少なくとも80%同一、少なくとも90%同一、または少なくとも95%同一である場合、「保存される」と言われる。いくつかの実施形態において、2つ以上の配列は、それらが互いに約30%同一、約40%同一、約50%同一、約60%同一、約70%同一、約80%同一、約90%同一、約95%同一、約98%同一、または約99%同一である場合、「保存される」と言われる。配列の保存は、オリゴヌクレオチドまたはポリペプチドの全長に適用してもよく、またはその一部分、領域、または特長に適用してもよい。

30

40

【0814】

環状または環化：本明細書で使用されるとき、「環状」という用語は、連続ループの存在を指す。環状分子は、円形である必要はなく、単に連結してサブユニットの途切れのない鎖を形成すればよい。本発明の操作されたRNAまたはmRNA等の環状分子は、単一ユニットであっても多量体であってもよく、または複合体もしくは高次構造の1つ以上の構成要素を含んでもよい。

【0815】

細胞増殖抑制性：本明細書で使用されるとき、「細胞増殖抑制性」は、細胞（例えば、哺乳類細胞（例えば、ヒト細胞）、細菌、ウイルス、真菌、原虫、寄生虫、プリオン、ま

50

たはこれらの組み合わせの成長、分裂、または増殖を阻害する、低減する、抑制することを指す。

【0816】

細胞傷害性：本明細書で使用されるとき、「細胞傷害性」は、細胞（例えば、哺乳類細胞（例えば、ヒト細胞）、細菌、ウイルス、真菌、原虫、寄生虫、プリオン、またはこれらの組み合わせを死滅させるか、あるいはそれらに有害、有毒、または致命的な影響を引き起こすことを指す。

【0817】

送達：本明細書で使用されるとき、「送達」は、化合物、物質、実体、部分、積荷、またはペイロードを送達する作用または様態を指す。

10

【0818】

送達剤：本明細書で使用されるとき、「送達剤」は、標的とされる細胞へのシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAのインビボ送達を少なくとも部分的に容易にする、任意の物質を指す。

【0819】

不安定化される：本明細書で使用されるとき、「不安定な」、「不安定化する」、または「不安定化領域」という用語は、同じ領域または分子の出発形態、野生型、または天然型よりも安定性が低い領域または分子を意味する。

【0820】

検出可能な標識：本明細書で使用されるとき、「検出可能な標識」は、放射線写真撮影、蛍光、化学発光、酵素的活性、吸光等を含む当技術分野で既知の方法によって容易に検出される別の実体と結合されるか、それとともに組み込まれるか、またはそれと会合される1つ以上のマーカー、シグナル、または部分を指す。検出可能な標識には、放射性同位体、フルオロフォア、発色団、酵素、色素、金属イオン、リガンド、例えば、ビオチン、アビジン、ストレプトアビジンおよびハプテン、量子ドット等が含まれる。検出可能な標識は、本明細書に開示のペプチドまたはタンパク質における任意の位置に位置してもよい。それらは、アミノ酸、ペプチド、もしくはタンパク質の内であっても、またはN末端もしくはC末端に位置してもよい。

20

【0821】

疾患：本明細書で使用されるとき、「疾患」という用語は、しばしば特定の身体上の症状を示す、生物体の身体に影響を及ぼす異常な状態を指す。

30

【0822】

障害：本明細書で使用されるとき、「障害」という用語は、身体の正常な機能または確立した系の破壊または正常な機能への干渉を指す。

【0823】

消化：本明細書で使用されるとき、「消化」という用語は、より小さい片または構成成分へと分解することを意味する。ポリペプチドまたはタンパク質に言及するとき、消化は、ペプチドの産生をもたらす。

【0824】

遠位：本明細書で使用されるとき、「遠位」という用語は、中心から離れて、または目的とする点もしくは領域から離れて位置することを意味する。

40

【0825】

用量分割係数（DSF）—用量分割治療のPUDを、総1日用量または単回単位用量のPUDで割った比率。値は、投薬レジメンの群の比較から導出される。

【0826】

コードされたタンパク質の切断シグナル：本明細書で使用されるとき、「コードされたタンパク質の切断シグナル」は、タンパク質切断シグナルをコードするヌクレオチド配列を指す。

【0827】

操作：本明細書で使用されるとき、本発明の実施形態は、それらが、構造的であろうと

50

化学的であろうと、出発点分子、野生型分子、または天然分子から異なる特長または特性を有するように設計されるとき、「操作」される。

【0828】

エクソソーム：本明細書で使用されるとき、「エクソソーム」は、哺乳類細胞によって分泌される小胞、またはRNA分解に関与する複合体である。

【0829】

発現：本明細書で使用されるとき、核酸配列の「発現」は、次の事象のうちの1つ以上を指す：(1) DNA配列からのRNAテンプレートの生成（例えば、転写による）、(2) RNA転写のプロセッシング（例えば、スプライシング、編集、5'キャップ形成、および／または3'末端プロセッシングによる）、(3) RNAのポリペプチドまたはタンパク質への翻訳、および(4) ポリペプチドまたはタンパク質の翻訳後修飾。

10

【0830】

特長：本明細書で使用されるとき、「特長」は、特徴、特性、または特有の要素を指す。

【0831】

製剤：本明細書で使用されるとき、「製剤」は、少なくともシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、またはmmRNAと、送達剤とを含む。

【0832】

断片：本明細書で使用されるとき、「断片」は、一部分を指す。例えば、タンパク質の断片は、培養細胞から単離された完全長タンパク質を消化することによって得られる、ポリペプチドを含み得る。

20

【0833】

機能的：本明細書で使用されるとき、「機能的」生体分子は、それが特徴付けられる特性および／または活性を示す形態にある、生体分子である。

【0834】

遺伝子型：本明細書で使用されるとき、「遺伝子型」は、対象、細胞、組織、器官および／または生物体の遺伝子型、すなわち遺伝的体質の変化を指す。

【0835】

相同性：本明細書で使用されるとき、「相同性」という用語は、ポリマー分子間、例えば、核酸分子（例えば、DNA分子および／またはRNA分子）間、および／またはポリペプチド分子間の全体的な関連性を指す。いくつかの実施形態において、ポリマー分子は、それらの配列が少なくとも25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99%同一または同様である場合、互いと「相同」とであると見なされる。「相同」という用語は必然的に、少なくとも2つの配列（ポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列）間の比較を指す。本発明に従って、2つのポリヌクレオチド配列は、それらがコードするポリペプチドが、少なくとも約20アミノ酸の少なくとも一続きにわたって少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはさらに99%である場合、相同であると見なされる。いくつかの実施形態において、相同ポリヌクレオチド配列は、少なくとも4～5つの固有に指定されるアミノ酸の一続きをコードする能力によって特徴付けられる。60ヌクレオチド長未満のポリヌクレオチド配列について、相同性は、少なくとも4～5つの固有に指定されるアミノ酸の一続きをコードする能力によって特徴付けられる。本発明に従って、2つのタンパク質配列は、タンパク質が、少なくとも約20アミノ酸の少なくとも一続きにわたって少なくとも約50%、60%、70%、80%、または90%同一である場合、相同であると見なされる。

30

40

【0836】

同一性：本明細書で使用されるとき、「同一性」という用語は、ポリマー分子間、例えば、オリゴヌクレオチド分子（例えば、DNA分子および／またはRNA分子）間、および／またはポリペプチド分子間の全体的な関連性を指す。2つのポリヌクレオチド配列の同一性パーセントの算出は、例えば、最適な比較目的のために2つの配列を整列させるこ

50

とによって行うことができる（例えば、最適なアライメントのために第1および第2の核酸配列の一方または両方にギャップを導入することができ、比較目的のために非同一配列を無視することができる）。ある特定の実施形態において、比較目的のために整列される配列の長さは、参照配列の長さの少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%である。対応するヌクレオチド位置におけるヌクレオチドが次いで比較される。第1の配列内の位置が、第2の配列内の対応する位置と同じヌクレオチドによって占有されるとき、その分子は、その位置で同一である。2つの配列間の同一性パーセントは、2つの配列の最適なアライメントのために導入する必要があるギャップの数および各ギャップの長さを考慮に入れながら、配列によって共有される同一位置の数の関数である。2つの配列間の配列の比較および同一性パーセントの決定は、数学的アルゴリズムを用いて遂行することができる。例えば、2つのヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、各々が参照により本明細書に組み込まれる、Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993, Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987, Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994, および Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991に記載の方法の等を用いて決定することができる。例えば、2つのヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、MeyersおよびMiller (CABIOS, 1989, 4:11-17)のアルゴリズムを用いて決定することができ、それはPAM120重量残基表、12のギャップ長ペナルティ、および4のギャップペナルティを用いてALIGNプログラム（第2.0版）に組み込まれている。2つのヌクレオチド配列間の同一性パーセントは、あるいは、NW Sgapdna. CMPマトリックスを使用するGCGソフトウェアパッケージにおけるGAPプログラムを用いて決定することができる。配列間の同一性パーセントを決定するために一般的に用いられる方法には、参照により本明細書に組み込まれるCarillo, H., and Lipman, D., SIAM J Applied Math., 48:1073 (1988)に開示の方法が含まれるが、これらに限定されない。同一性を決定するための技法は、公的に利用可能なコンピュータプログラムにおいて成文化されている。2つの配列間の相同性を決定するための例示のコンピュータソフトウェアには、GCGプログラムパッケージ、Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research, 12(1), 387 (1984)、BLASTP、BLASTN、およびFASTA、Altschul, S. F. et al., J. Mol. Biol., 215, 403 (1990)が含まれるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

【0837】

遺伝子の発現を阻害する：本明細書で使用されるとき、「遺伝子の発現を阻害する」という表現は、遺伝子の発現産物の量の低減を引き起こすことを意味する。発現産物は、遺伝子から転写されたRNA（例えば、mRNA）、または遺伝子から転写されたmRNAから翻訳されたポリペプチドであり得る。典型的に、mRNAのレベルの低減は、そこから翻訳されたポリペプチドのレベルの低減をもたらす。発現のレベルは、mRNAまたはタンパク質を測定するための標準的な技法を用いて決定されてもよい。

【0838】

インビトロ：本明細書で使用されるとき、「インビトロ」という用語は、生物（例えば

50

、動物、植物、または微生物)内ではなく、例えば、試験管または反応槽中、細胞培養物中、ペトリ皿中等の、人工的な環境で生じる事象を指す。

【0839】

インビボ：本明細書で使用されるとき、「インビボ」という用語は、生物（例えば、動物、植物、もしくは微生物、またはその細胞もしくは組織）内で生じる事象を指す。

【0840】

単離された：本明細書で使用されるとき、「単離された」という用語は、それが会合された（自然にであるか、実験的設定であるかにかかわらず）構成成分のうちの少なくとも一部から分離された物質または実体を指す。単離された物質は、それが会合した物質に関して様々なレベルの純度を有し得る。単離された物質および／または実体は、それらが最初に会合されたその他の構成成分の少なくとも約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、またはそれよりも多くから分離され得る。いくつかの実施形態において、単離された薬剤は、約80%超、約85%超、約90%超、約91%超、約92%超、約93%超、約94%超、約95%超、約96%超、約97%超、約98%超、約99%超、または約99%超純粋である。本明細書で使用されるとき、物質は、他の構成成分が実質的にない場合、「純粋」である。実質的に単離される：「実質的に単離される」とは、化合物が、それが形成されたまたは検出された環境から実質的に分離されることを意味する。部分的分離には、例えば、本開示の化合物を豊富に含んだ組成物が含まれ得る。実質的な分離には、少なくとも約50重量%、少なくとも約60重量%、少なくとも約70重量%、少なくとも約80重量%、少なくとも約90重量%、少なくとも約95重量%、少なくとも約97重量%、または少なくとも約99重量%の本開示の化合物、またはその塩を含有する組成物が含まれ得る。化合物およびそれらの塩を単離するための方法は、当技術分野で通例である。

【0841】

リンカー：本明細書で使用されるとき、リンカーは、例えば、10～1,000原子の原子団を指し、炭素、アミノ、アルキルアミノ、酸素、硫黄、スルホキシド、スルホニル、カルボニル、およびイミン等であるが、これらに限定されない、原子または群からなり得る。リンカーは、第1の末端で核酸塩基または糖部分上の修飾ヌクレオシドまたはヌクレオチドに、および第2の末端でペイロード、例えば、検出可能な薬剤または治療剤に、結合され得る。リンカーは、核酸配列への組み込みを干渉しないような十分な長さのものであり得る。リンカーは、任意の有用な目的のため、例えば、mmRNA多量体（例えば、2つ以上のシグナルセンサーポリヌクレオチド、一次構築物、もしくはmmRNA分子の連鎖を介して）またはmmRNA複合体を形成するため、かつ本明細書に記載のペイロードを投与するために使用することができる。リンカーに組み込むことができる化学基の例としては、アルキル、アルケニル、アルキニル、アミド、アミノ、エーテル、チオエーテル、エステル、アルキレン、ヘテロアルキレン、アリール、またはヘテロシクリルが挙げられるが、これらに限定されず、これらの各々は、本明細書に記載されるように任意に置換され得る。リンカーの例としては、不飽和アルカン、ポリエチレングリコール（例えば、エチレンまたはプロピレングリコールモノマー単位、例えば、ジエチレングリコール、ジプロピレングリコール、トリエチレングリコール、トリプロピレングリコール、テトラエチレングリコール、またはテトラエチレングリコール）、ならびにデキストランポリマーが挙げられるが、これらに限定されない。他の例としては、還元剤または光分解を用いて切断され得る、例えば、ジスルフィド結合（—S—S—）またはアゾ結合（—N=N—）等の、リンカー内の切断可能部分が挙げられるが、これらに限定されない。選択的に切断可能な結合の非限定的な例としては、例えば、トリス（2-カルボキシエチル）ホスフィン（TCPEP）、または他の還元剤および／もしくは光分解の使用によって切断され得る、アミド結合、ならびに例えば、酸性または塩基性加水分解によって切断され得る、エステル結合が挙げられる。

【0842】

転移：本明細書で使用されるとき、「転移」という用語は、がんが初めに原発腫瘍とし

10

20

30

40

50

て生じた場所から身体の遠位の箇所に転移するプロセスを意味する。

【0843】

治療の方法：「治療の方法」という表現またはそれに同等する表現は、例えばがんに適
用される場合、がん細胞の数を低下または除去する、がん細胞の数の増加を阻止する、ま
たは、対象のがんの症状を緩和するように設計される行動の手順または過程を指す。がん
または他の腫瘍学関連障害を治療する方法は、必ずしも、がん細胞または他の障害が実際
に完全に除去されること、細胞の数または障害が実際に軽減すること、または、がんまた
は他の障害の症状が実際に緩和されることを意味するわけではない。しばしば、がんを治
療する方法は、成功率は低くても、対象の病歴および推定される生存予期を踏まえて、そ
れでも全体的に有益な行動過程と考えられる状況で、実施されるだろう。

10

【0844】

マイクロRNA (miRNA) 結合部位：本明細書で使用されるとき、マイクロRNA
(miRNA) 結合部位は、miRNAの少なくとも「シード」領域が結合する、核酸転
写物のヌクレオチド箇所または領域を表す。

【0845】

修飾された：本明細書で使用されるとき、「修飾された」とは、本発明の分子の変化し
た状態または構造を指す。分子は、化学的、構造的、および機能的修飾を含む、多くの方
式で修飾されてもよい。一実施形態において、本発明のmRNA分子は、例えば、それが
天然リボヌクレオチドA、U、G、およびCに関わるとき、非天然ヌクレオチドおよび/
またはヌクレオチドの導入によって修飾される。キャップ構造等の非標準のヌクレオチド
は、それらがA、C、G、Uリボヌクレオチドの化学構造とは異なっている「修飾され
る」と見なされない。

20

【0846】

粘液：本明細書で使用されるとき、「粘液」は、粘性であり、ムチン糖タンパク質を含
む、天然物質を指す。

【0847】

天然に生じる：本明細書で使用されるとき、「天然に生じる」は、人工的補助を伴わず
に自然界に存在することを意味する。

【0848】

非ヒト脊椎動物：本明細書で使用されるとき、「非ヒト脊椎動物」には、野生種および
家畜化された種を含む、ホモサピエンスを除くすべての脊椎動物が含まれる。非ヒト脊椎
動物の例としては、アルパカ、バンテン、バイソン、ラクダ、ネコ、ウシ、シカ、イヌ、
ロバ、ガヤル、ヤギ、モルモット、ウマ、ラマ、ラバ、ブタ、ウサギ、トナカイ、ヒツジ
、水牛、およびヤク等の哺乳動物が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0849】

オフターゲット：本明細書で使用されるとき、「オフターゲット」は、任意の1つ以上
の標的、遺伝子、または細胞転写物への任意の意図されない効果を指す。

【0850】

腫瘍学関連：本明細書で使用されるとき、「腫瘍学関連」という用語は、限定はしない
ががんを包含する、過剰増殖疾患、障害および/または状態のうち1つ以上のいずれかの
側面に関連する、あらゆる疾患、障害、状態、治療、プロセス、物質または化合物を指す
。

40

【0851】

オープンリーディングフレーム：本明細書で使用されるとき、「オープンリーディング
フレーム」または「ORF」は、所与のリーディングフレーム内に終止コドンを含みしな
い配列を指す。

【0852】

作動可能に連結される：本明細書で使用されるとき、「作動可能に連結される」という
表現は、2つ以上の分子、構築物、転写物、実体、部分等の間の機能的結合を指す。

【0853】

50

パラトープ：本明細書で使用されるとき、「パラトープ」は、抗体の抗原結合部位を指す。

【0854】

患者：本明細書で使用されるとき、「患者」は、治療を求め得るもしくは治療を必要とし得る、治療を要する、治療を受けている、治療を受けることになる、または特定の疾患もしくは状態のために訓練を受けた専門家の看護下にある、対象を指す。

【0855】

任意に置換される：本明細書において、「任意に置換されるX」（例えば、任意に置換されるアルキル）という形態の語句は、「Xであって、式中、Xは、任意に置換される」（例えば、「アルキル、式中、該アルキルは、任意に置換される」）と同等であることが意図される。特長「X」（例えば、アルキル）自体が任意であることを意味することは意図されない。

10

【0856】

ペプチド：本明細書で使用されるとき、「ペプチド」は、50アミノ酸長以下、例えば、約5、10、15、20、25、30、35、40、45、または50アミノ酸長である。

【0857】

薬学的組成物：「薬学的組成物」という表現は、疾患、障害および／または状態の原因を変える組成物を指す。

【0858】

20

薬学的に許容される：「薬学的に許容される」という表現は、本明細書で、健全な医療判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症を伴わずにヒトおよび動物の組織と接触して使用するのに好適であり、妥当な便益／危険性比率に見合った、化合物、材料、組成物、および／または剤形を指すように用いられる。

【0859】

薬学的に許容される賦形剤：本明細書で使用されるとき、「薬学的に許容される賦形剤」という表現は、本明細書に記載の化合物以外のものであり（例えば、活性化化合物を懸濁させるまたは溶解させることが可能なビヒクル）、かつ患者において実質的に非毒性および非炎症性である特性を有する、任意の成分を指す。賦形剤には、例えば、粘着防止剤（*antiadherents*）、酸化防止剤、結合剤、コーティング剤、圧縮助剤（*compression aids*）、崩壊剤、色素（色）、軟化剤、乳化剤、充填剤（希釈剤）、薄膜形成剤またはコーティング剤、香味剤、着香剤、流動促進剤（流動性促進剤）、滑沢剤、防腐剤、印刷インキ、吸着剤、懸濁化剤または分散化剤、甘味剤、および水和水が含まれてもよい。例示の賦形剤には、次のものが含まれるが、これらに限定されない：ブチル化ヒドロキシトルエン（BHT）、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム（第二）、ステアリン酸カルシウム、クロスカルメロース、架橋結合ポリビニルピロリドン、クエン酸、クロスポビドン、システイン、エチルセルロース、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ラクトース、ステアリン酸マグネシウム、マルチトール、マンニトール、メチオニン、メチルセルロース、メチルパラベン、微小結晶セルロース、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、ポビドン、 α 化

30

40

【0860】

薬学的に許容される塩：本開示は、本明細書に記載の化合物の薬学的に許容される塩も含む。本明細書で使用されるとき、「薬学的に許容される塩」は、既存の酸または塩基部分をその塩形態に変換する（例えば、遊離塩基を好適な有機酸と反応させることによって）ことによって親化合物が修飾される、開示される化合物の誘導体を指す。薬学的に許容される塩の例としては、アミン等の塩基性残基の鉱酸塩または有機酸塩、カルボン酸等の

50

酸性残基のアルカリ塩または有機塩等が挙げられるが、これらに限定されない。代表的な酸付加塩には、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、樟脳酸塩、樟脳スルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプトン酸塩、ヘキサン酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素、2-ヒドロキシーエタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリル酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチニン酸塩（ペクチン a t e）、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアネート、トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩等が含まれる。代表的なアルカリ金属またはアルカリ土類金属塩には、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム等、ならびにアンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エチルアミン等を含むが、これらに限定されない、非毒性アンモニウム、第四級アンモニウム、およびアミンカチオンが含まれる。本開示の薬学的に許容される塩には、例えば、非毒性無機酸または有機酸から形成される、親化合物の従来の非毒性塩が含まれる。本開示の薬学的に許容される塩は、従来の化学方法によって、塩基性または酸性部分を含有する親化合物から合成することができる。一般に、そのような塩は、これらの化合物の遊離酸型または遊離塩基型を、化学量論的量の適切な塩基または酸と、水中もしくは有機溶媒中で、またはその2つの混合物中で反応させることによって調製することができる。一般に、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、またはブタノール）、またはアセトニトリル等の非水性媒体が好ましい。好適な塩の一覧は、各々が参照により全体が本明細書に組み込まれる、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418、Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, P. H. Stahl and C. G. Wermuth (eds.), Wiley-VCH, 2008、および Berge et al., Journal of Pharmaceutical Science, 66, 1-19 (1977) において見出される。

10

20

30

【0861】

薬学的に許容される溶媒和物：本明細書で使用されるとき、「薬学的に許容される溶媒和物」という用語は、好適な溶媒の分子が結晶格子に組み込まれる、本発明の化合物を意味する。好適な溶媒は、投与される投薬量で生理学的に耐性がある。例えば、溶媒和物は、結晶化、再結晶化、または沈殿によって、有機溶媒、水、またはそれらの混合物を含む溶液から調製されてもよい。好適な溶媒の例としては、エタノール、水（例えば、一、二、および三水和物）、N-メチルピロリジノン（NMP）、ジメチルスルホキシド（DMSO）、N, N'-ジメチルホルムアミド（DMF）、N, N'-ジメチルアセトアミド（DMAC）、1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノン（DMEU）、1, 3-ジメチル-3, 4, 5, 6-テトラヒドロ-2-(1H)-ピリミジノン（DMPU）、アセトニトリル（ACN）、プロピレングリコール、酢酸エチル、ベンジルアルコール、2-ピロリドン、ベンジル安息香酸塩等が挙げられる。水が溶媒であるとき、その溶媒和物は、「水和物」と称される。

40

【0862】

薬物動態：本明細書で使用されるとき、「薬物動態」は、生存生物に投与される物質の運命の決定に関わるような、分子または化合物の任意の1つ以上の特性を指す。薬物動態は、吸収、分布、代謝、および排泄の程度および速度を含む、いくつかの領域に分割される。これは、一般的に、ADMEと称され、ここで（A）吸収は、物質が血液循環に進入

50

するプロセスであり、(D)分布は、身体の流体および組織全体にわたる物質の分散または散布であり、(M)代謝（または生体内変換）は、親化合物の娘代謝産物への不可逆的な変換であり、(E)排泄（または排除）は、身体からの物質の排除を指す。まれな場合において、いくつかの薬物は、身体組織内に不可逆的に蓄積する。

【0863】

表現型：本明細書で使用されるとき、「表現型」は対象、細胞、組織、器官および／または生物体の観察可能な特徴のセットを指す。

【0864】

物理化学：本明細書で使用されるとき、「物理化学」は、物理特性および／または化学特性のものまたはそれに関わることを意味する。

10

【0865】

予防する：本明細書で使用されるとき、「予防する」という用語は、感染、疾患、障害、および／もしくは状態の発症を部分的もしくは完全に遅延させること；特定の感染、疾患、障害、および／もしくは状態の1つ以上の症状、特長、もしくは臨床徴候の発症を部分的もしくは完全に遅延させること；特定の感染、疾患、障害、および／もしくは状態の1つ以上の症状、特長、もしくは徴候の発症を部分的もしくは完全に遅延させること；感染からの、特定の疾患、障害、および／もしくは状態の進行を部分的もしくは完全に遅延させること；ならびに／または感染、疾患、障害、および／もしくは状態に関連した病理を発症する危険性を減少させることを指す。

20

【0866】

プロドラッグ：本開示は、本明細書に記載の化合物のプロドラッグも含む。本明細書で使用されるとき、「プロドラッグ」は、化学的または物理的变化を経ると治療薬として作用する物質、分子、または実体に属する形態にある、任意の物質、分子、または実体を指す。プロドラッグは、何らかの方式で共有結合されるかまたは隔離され得、哺乳類対象に投与される前、投与されると、または投与された後に、活性薬物を放出するか、または活性薬物部分に変換される。プロドラッグは、化合物中に存在する官能基を、修飾部分が通例の操作でまたはインビボでのいずれかで親化合物へと切断されるような方式で修飾することによって、調製することができる。プロドラッグは、ヒドロキシル、アミノ、スルフヒドリル、またはカルボキシル基が任意の基に結合される化合物であり、それは哺乳類対象に投与されると、切断されてそれぞれ遊離ヒドロキシル、アミノ、スルフヒドリル、またはカルボキシル基を形成する。プロドラッグの調製および使用は、両方とも参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる、T. Higuchi and V. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," Vol. 14 of the A. C. S. Symposium Seriesに、およびBioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987で論じられている。

30

【0867】

増殖する：本明細書で使用されるとき、「増殖する」という用語は、成長する、拡大する、もしくは増加する、または急速な成長、拡大、もしくは増加を引き起こすことを意味する。「増殖性」は、増殖する能力を有することを意味する。「抗増殖性」は、増殖特性に反するか、または増殖特性に不適切である特性を有することを意味する。

40

【0868】

タンパク質切断部位：本明細書で使用されるとき、「タンパク質切断部位」は、化学的、酵素的、または光化学的手段によってアミノ酸鎖の制御された切断が遂行される部位を指す。

【0869】

タンパク質切断シグナル：本明細書で使用されるとき、「タンパク質切断シグナル」は、切断のためにポリペプチドにフラグまたはマークを付ける少なくとも1つのアミノ酸を

50

指す。

【0870】

進行：本明細書で使用されるとき、「進行」という用語（例えば、がんの進行）は、疾患もしくは状態の発達もしくは悪化、または、疾患もしくは状態への発達もしくは悪化を指す。

【0871】

目的とするタンパク質：本明細書で使用されるとき、「目的とするタンパク質」または「所望のタンパク質」という用語は、本明細書に提供されるもの、ならびにそれらの断片、変異体、変異形、および改変体を含む。

【0872】

近位：本明細書で使用されるとき、「近位」という用語は、中心の、または目的とする点もしくは領域のより近くに位置することを意味する。

【0873】

シュードウリジン：本明細書で使用されるとき、シュードウリジンは、ヌクレオシドウリジンのC-グリコシド異性体を指す。「シュードウリジン類似体」は、シュードウリジンの任意の修飾、変異形、アイソフォーム、または誘導体である。例えば、シュードウリジン類似体には、1-カルボキシメチル-シュードウリジン、1-プロピニル-シュードウリジン、1-タウリノメチル-シュードウリジン、1-タウリノメチル-4-チオ-シュードウリジン、1-メチル-シュードウリジン ($m^1\psi$)、1-メチル-4-チオ-シュードウリジン ($m^1s^4\psi$)、4-チオ-1-メチル-シュードウリジン、3-メチル-シュードウリジン ($m^3\psi$)、2-チオ-1-メチル-シュードウリジン、1-メチル-1-デアザ-シュードウリジン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-シュードウリジン、ジヒドロシュードウリジン、2-チオ-ジヒドロシュードウリジン、2-メトキシウリジン、2-メトキシ-4-チオ-ウリジン、4-メトキシ-シュードウリジン、4-メトキシ-2-チオ-シュードウリジン、N1-メチル-シュードウリジン、1-メチル-3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)シュードウリジン ($acp^3\psi$)、および2'-O-メチル-シュードウリジン (ψm) が含まれるが、これらに限定されない。

【0874】

精製される：本明細書で使用されるとき、「精製する」、「精製される」、「精製」は、実質的に純粋にするか、または望ましくない構成成分、汚染材料、混和物、もしくは不完全性を取り除くことを意味する。

【0875】

退縮：本明細書で使用されるとき、「退縮」または「退縮の度合い」という用語は、表現型的または遺伝子型的のいずれかで、がん進行が逆行することを指す。がん進行を遅めるまたは止めることは退縮と見なされてよい。

【0876】

効果を軽減する：本明細書で使用されるとき、「効果を低下させる」という表現は、症状を指している場合、対象の症状を軽減、除去または緩和することを意味する。必ずしも、症状が実際に完全に除去、軽減または緩和されるという意味ではない。

【0877】

試料：本明細書で使用されるとき、「試料」または「生体試料」という用語は、その組織、細胞、または構成部分の部分集合（例えば、血液、粘液、リンパ液、滑液、脳脊髄液、唾液、羊水、臍帯血、尿、腔液、および精液を含むが、これらに限定されない体液）を指す。試料には、例えば、血漿、血清、脊髄液、リンパ液、皮膚の外部切片、呼吸器管、腸管、および尿生殖器管、涙液、唾液、乳、血液細胞、腫瘍、器官を含むが、これらに限定されない、全生物、またはその組織、細胞、もしくは構成部分の部分集合、またはその画分もしくは一部分から調製される、ホモジネート、可溶化液、または抽出物がさらに含まれ得る。試料はさらに、タンパク質または核酸分子等の細胞構成成分を含有し得る、栄養ブロスまたはゲル等の培地を指す。

【0878】

副作用：本明細書で使用されるとき、「副作用」という表現は治療の二次的な効果を指す。

【0879】

シグナルペプチド配列：本明細書で使用されるとき、「シグナルペプチド配列」という表現は、タンパク質の輸送または局在化を指示することができる配列を指す。

【0880】

シグナルセンサーポリヌクレオチド：本明細書で使用されるとき、「シグナルセンサーポリヌクレオチド」は、翻訳された時に「シグナル」を細胞（がん細胞または非がん細胞）に送達し、がん細胞に有害または正常な細胞に有益であるか、がん細胞に有害かつ正常な細胞に有利であるかのいずれかである治療効果を生物体にもたらす、目的とする腫瘍学関連ポリペプチドを1つ以上コードする核酸転写物である。シグナルセンサーポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの微小環境を「感知」し、（a）翻訳されるペプチドまたはタンパク質に関連する機能または表現型的結果、（b）シグナルセンサーポリヌクレオチドの発現量、および／または双方を変化させる配列（翻訳可能または不可能）をさらに含んでいてもよい。

10

【0881】

単回単位用量：本明細書で使用されるとき、「単回単位用量」は、1回用量／一度に／単一経路／単一接触点、すなわち、単一の投与事象において投与される、任意の治療薬の用量である。

【0882】

類似性：本明細書で使用されるとき、「類似性」という用語は、ポリマー分子間、例えば、ポリヌクレオチド分子（例えば、DNA分子および／またはRNA分子）間、および／またはポリペプチド分子間の全体的な関連性を指す。ポリマー分子の互いの類似性パーセントの算出は、同一性パーセントの算出と同様に行うことができるが、当技術分野で理解されるように、類似性パーセントの算出が保存的置換を考慮に入れることを除く。

20

【0883】

皮膚：「皮膚」という用語は対象の身体の天然の外部被覆を形成する組織の薄い層であり、表皮および真皮を包含する。真皮は皮膚の表面上皮である表皮の下部にある生組織の厚い層である。

【0884】

分割用量：本明細書で使用されるとき、「分割用量」は、単回単位用量または総1日用量の、2つ以上の用量への分割である。

30

【0885】

安定した：本明細書で使用されるとき、「安定した」は、反応混合物から有用な純度で単離後に残存するのに十分に強固であり、好ましくは効果的な治療剤へと製剤可能である、化合物を指す。

【0886】

安定化される：本明細書で使用されるとき、「安定化」、「安定化される」、「安定化領域」という用語は、安定させるまたは安定となることを意味する。

【0887】

対象：本明細書で使用されるとき、「対象」または「患者」という用語は、本発明に従う組成物が、例えば、実験、診断、予防、および／または治療目的のために投与され得る、任意の生物を指す。典型的な対象には、動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、およびヒト等の哺乳動物）および／または植物が含まれる。

40

【0888】

実質的に：本明細書で使用されるとき、「実質的に」という用語は、目的とする特徴または特性の全範囲もしくは程度またはほぼ全範囲もしくは程度を示す、定性的状態を指す。生物学技術分野の専門家であれば、生物学および化学的現象が、完了するかつ／もしくは完了まで進行する、または絶対的な結果を達成するもしくはそれを回避することは、あってもまれであることを理解するであろう。「実質的に」という用語は、したがって、

50

多くの生物学的および化学的現象に本来的に存在するの完全性の潜在的な欠如を捕捉するように本明細書で使用される。

【0889】

実質的に等しい：それが用量間の時差に関するように本明細書で使用されるとき、この用語は、プラス／マイナス2%を意味する。

【0890】

実質的に同時に：本明細書で使用され、かつそれが複数の用量に関するとき、この用語は、2秒以内を意味する。

【0891】

を患う：疾患、障害、および／または状態「を患う」個体は、疾患、障害、および／もしくは状態であると診断されているか、または疾患、障害、および／もしくは状態の1つ以上の症状を呈する。

10

【0892】

に罹患しやすい：疾患、障害、および／または状態「に罹患しやすい」個体は、疾患、障害、および／もしくは状態であると診断されておらず、かつ／または疾患、障害、および／もしくは状態の症状を呈しないことがあるが、疾患もしくはその症状を発症する傾向を内部に持つ。いくつかの実施形態において、疾患、障害、および／または状態（例えば、癌）に罹患しやすい個体は、次のうちのうちの1つ以上によって特徴付けられ得る：（1）疾患、障害、および／または状態の発症に関連した遺伝子突然変異、（2）疾患、障害、および／または状態の発症に関連した遺伝子多型、（3）疾患、障害、および／または状態に関連したタンパク質および／または核酸の増加したおよび／または減少した発現および／または活性、（4）疾患、障害、および／または状態の発症に関連した習慣および／または生活様式、（5）疾患、障害、および／または状態の家族歴、ならびに（6）疾患、障害、および／または状態の発症に関連した微生物への曝露および／またはその微生物への感染。いくつかの実施形態において、疾患、障害、および／または状態に罹患しやすい個体は、その疾患、障害、および／または状態を発症することになる。いくつかの実施形態において、疾患、障害、および／または状態に罹患しやすい個体は、その疾患、障害、および／または状態を発症することにはならない。

20

【0893】

症状：本明細書で使用されるとき、「症状」という用語は、疾患、障害および／または状態の兆候である。例えば、症状は、それを有する対象は感じ得る、または、気づき得るが、対象の外面的な見た目または挙動を見ることでは容易に評価され得ない。症状の例としては、脱力感、疼痛および痛み、熱、疲労、体重減少、血液凝固、血液のカルシウム量の上昇、白血球数の低下、息切れ、めまい、頭痛、色素沈着過剰、黄疸、紅斑症、そう痒症、多毛症、排便習慣の変化、膀胱機能の変化、永続的な潰瘍、口内の白い斑点、舌上の白点、異常な出血または排泄、身体部分の肥大またはこぶ、消化不良、呑み込みにくさ、いぼまたはほくろの変化、新しい皮膚の変化およびしつこい咳またはしわがれ声が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0894】

合成：「合成」という用語は、人間の手によって生成される、調製される、および／または製造されることを意味する。本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドもしくはポリペプチドまたは他の分子の合成は、化学的であっても酵素的であってもよい。

40

【0895】

標的とされる細胞：本明細書で使用されるとき、「標的とされる細胞」は、目的とする任意の1つ以上の細胞を指す。この細胞は、インビトロで、インビボで、インサイツで、または生物の組織もしくは器官内で見つけられ得る。生物は、動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒト、最も好ましくは患者であり得る。

【0896】

治療剤：「治療剤」という用語は、対象に投与されたときに、治療、診断、および／もしくは予防効果を有し、かつ／または所望の生物学的および／もしくは薬理学的効果を誘

50

発する、任意の薬剤を指す。

【0897】

治療上有効量：本明細書で使用されるとき、「治療上有効量」という用語は、感染、疾患、障害、および／または状態を患うか、またはそれらに罹患しやすい対象に投与されたときに、感染、疾患、障害、および／または状態を治療する、その症状を改善する、診断する、予防する、かつ／またはその発症を遅延させるのに十分である、送達対象の薬剤（例えば、核酸、薬物、治療剤、診断剤、予防剤等）の量を意味する。

【0898】

治療上有効成果：本明細書で使用されるとき、「治療上有効成果」という用語は、感染、疾患、障害、および／または状態を患うか、またはそれらに罹患しやすい対象において、感染、疾患、障害、および／または状態を治療し、その症状を改善し、診断し、予防し、かつ／またはその発症を遅延させるのに十分である成果を意味する。

【0899】

総1日用量：本明細書で使用されるとき、「総1日用量」は、24時間の期間に与えられるまたは処方される量である。それは、単回単位用量として投与されてもよい。

【0900】

転写因子：本明細書で使用されるとき、「転写因子」という用語は、例えば、転写の活性化または抑制によって、DNAのRNAへの転写を調節する、DNA結合タンパク質を指す。いくつかの転写因子は、転写の調節を単独でもたらす一方で、他の転写因子は、他のタンパク質と協働して作用する。いくつかの転写因子は、ある特定の条件下で、転写の活性化および抑制の両方を行うことができる。一般に、転写因子は、標的遺伝子の調節領域内の特定のコンセンサス配列に非常に類似した、特定の標的配列（単数または複数）に結合する。転写因子は、標的遺伝子の転写を単独でまたは他の分子と複合して調節し得る。

【0901】

治療する：本明細書で使用されるとき、「治療する」という用語は、特定の感染、疾患、障害、および／もしくは状態の1つ以上の症状または特徴を、部分的にまたは完全に緩和すること、寛解させること、改善すること、軽減すること、その発症を遅延させること、その進行を阻害すること、その重症度を低減すること、および／またはその発生率を低減することを指す。例えば、癌を「治療する」とは、腫瘍の生存、成長、および／または転移を阻害することを指し得る。治療は、疾患、障害、および／または状態に関連した病理を発症する危険性を減少させる目的のために、疾患、障害、および／もしくは状態の徴候を呈しない対象に、ならびに／または疾患、障害、および／もしくは状態の早期徴候のみを呈する対象に投与されてもよい。

【0902】

腫瘍：本明細書で使用されるとき、「腫瘍」は良性であろうと悪性であろうと、組織の異常な成長を指す。

【0903】

腫瘍の成長：本明細書で使用されるとき、「腫瘍の成長」または「腫瘍の転移」という用語は、腫瘍の質量もしくは体積の増加または腫瘍分布の拡大を指す。

【0904】

未修飾：本明細書で使用されるとき、「未修飾」は、任意の方式で変化させられる前の任意の物質、化合物、または分子を指す。未修飾は、生体分子の野生型または天然型を指し得るが、必ずしもそうとは限らない。分子は、一連の修飾を経てもよく、それによって各修飾分子は、その後の修飾のための「未修飾」出発分子としての役目を果たし得る。

【0905】

均等物および範囲

当業者であれば、ほんの日常的な実験を用いて、本明細書に記載の本発明に従う具体的な実施形態に対する多くの均等物を認識するか、解明することができる。本発明の範囲は、上記の説明に限定されるようには意図されず、むしろ添付の特許請求の範囲に記載され

10

20

30

40

50

るように限定されることが意図される。

【0906】

特許請求の範囲において、「a」、「an」、および「the」等の冠詞は、それとは反対の指定があるか、または文脈から別途明白でない限り、1つまたは2つ以上を意味し得る。群の1つ以上の構成員の間に「または」を含む特許請求項または記述は、それとは反対の指定があるか、または文脈から別途明白でない限り、その群の構成員のうちの1つ、2つ以上、またはすべてが、所与の生成物またはプロセスにおいて存在するか、それにおいて用いられるか、あるいはそれと関連性がある場合、満たされると見なされる。本発明は、群の厳密に1つの構成員が所与の生成物またはプロセスにおいて存在するか、それにおいて用いられるか、あるいはそれと関連性のある実施形態を含む。本発明は、群の構成員のうちの1つを超えるものまたはすべてが所与の生成物またはプロセスにおいて存在するか、それにおいて用いられるか、あるいはそれと関連性のある実施形態を含む。

10

【0907】

また、「含む」という用語は、制限がないことが意図され、さらなる要素またはステップの組み込みを許容するが、それを必要とするわけではないことに留意する。「含む」という用語が本明細書で使用されるとき、「からなる」という用語もそれ故に包含され、開示される。

【0908】

範囲が与えられる場合、端点が含まれる。さらに、別途指定されるか、または文脈および当業者の理解から別途明白でない限り、範囲として表される値は、文脈上、そうでないとする明確な指示がない限り、本発明の異なる実施形態において定められる範囲内で、その範囲の下限の単位の10分の1までの任意の具体的な値または部分範囲をとることができることを理解されたい。

20

【0909】

さらに、先行技術の範囲内に該当する本発明の任意の特定の実施形態が、請求項のうちの任意の1つ以上から明示的に除外されてもよいことを理解されたい。そのような実施形態は当業者に既知であるとされるため、その除外が本明細書に明示的に記載されないとしても、それらは除外されてもよい。本発明の組成物の任意の特定の実施形態（例えば、任意の核酸またはそれによってコードされるタンパク質、任意の産生方法、任意の使用方法等）が、先行技術の存在に関連するか否かに関わらず、任意の理由で、任意の1つ以上の請求項から除外され得る。

30

【0910】

すべての引用される情報源、例えば、参考文献、刊行物、データベース、データベースエントリ、および本明細書に引用される技術は、引用文に明示的に述べられないとしても、参照により本出願に組み込まれる。引用される情報源および本出願の相反する記述がある場合には、本出願における記述が優先されるものとする。

【0911】

節および表の見出しは、限定するようには意図されない。

【実施例】

【0912】

実施例1. シグナルセンサーポリヌクレオチドの産生

40

【0913】

本発明に記載の修飾シグナルセンサーmRNA (mmRNA) は、標準的な実験室方法および材料を用いて作製することができる。目的とする遺伝子のオープンリーディングフレーム (ORF) は、ポリA尾部の鋳型付加のために、強力なコザック翻訳開始シグナルを含有し得る5' 非翻訳領域 (UTR) および／またはオリゴ (dT) 配列を含み得るα-グロビン3' UTRに隣接し得る。修飾mRNAは、細胞の自然免疫応答を低減させるように修飾され得る。細胞の応答を低減させる修飾には、シュードウリジン (ψ) および5-メチルシチジン (5meC、5mc、またはm⁵C) が含まれ得る (参照により本明細書に組み込まれる、Kariko KらImmunity 23:165-75 (2

50

005)、Kariko K et al. Mol Ther 16:1833-40 (2008)、Anderson BRらNAR (2010)を参照のこと)。

【0914】

ORFは、DNA 2.0 (Menlo Park、カリフォルニア州)等であるが、これに限定されない最適化サービスから購入することができる、様々な上流または下流付加(β-グロビン、タグ等であるがこれらに限定されない)も含み得、XbaI認識を有し得る複数のクローニング部位も含有し得る。構築物を受容すると、それが再構築され、化学的にコンピテントな大腸菌に変換され得る。

【0915】

本発明には、NEB DH5-αコンピテント大腸菌を使用してもよい。変換は、NEBの指示に従って、100 ngのプラスミドを用いて行う。プロトコルは次の通りである。

10

【0916】

氷上のNEB DH5-αコンピテント大腸菌細胞の管を10分間解凍する。

【0917】

1 pg~100 ngのプラスミドDNAを含有する1~5 μlを細胞混合物に添加する。管を慎重に4~5回振り、細胞とDNAを混合する。ボルテックスしないこと。

【0918】

混合物を30分間氷上に置く。混ぜないこと。

【0919】

42℃で正確に30秒間熱ショックを与える。混ぜないこと。

20

【0920】

5分間氷上に置く。混ぜないこと。

【0921】

室温のSOCを950 μlピペットで混合物に入れる。

【0922】

37℃で60分間置く。激しく振盪させる(250 rpm)か、または回転させる。

【0923】

選択プレートを37℃に温める。

【0924】

管を振り、逆さにすることによって完全に細胞を混合する。

30

【0925】

50~100 μlの各希釈物を選択プレートに広げ、37℃で一晩インキュベートする。あるいは、30℃で24~36時間または25℃で48時間インキュベートする。

【0926】

次いで、単一コロニーを使用し、適切な抗生物質を用いて5 mlのLB成長培地を接種し、5時間成長させる(250 RPM、37℃)。次いで、これを使用して、200 mlの培養培地を接種し、同じ条件下で一晩成長させる。

【0927】

プラスミドを単離するために(最大850 μg)、製造業者の指示に従ってInvitrogen PURELINK (商標) HiPure Maxiprep Kit (カールスバッド、カリフォルニア州)を用いてマキシプレップを行う。

40

【0928】

in vitro転写(IVT)のためのcDNAを生成するために、プラスミドを、XbaI等の制限酵素を用いてまず線形化する。XbaIでの典型的な制限消化には、以下が含まれる: プラスミド1.0 μg、10倍緩衝液1.0 μl、XbaI 1.5 μl、dH2O最大10 μl、37℃で1時間のインキュベーション。実験室規模(5 μg未満)で行う場合、製造業者の指示に従ってInvitrogenのPURELINK (商標) PCR Micro Kit (カールスバッド、カリフォルニア州)を用いて、反応物を浄化する。より大規模な精製は、Invitrogenの標準的PURELINK (商

50

標) P C R K i t (カールスバッド、カリフォルニア州) 等、より大きな充填容量を有する製品を用いて行う必要があり得る。浄化した後、線形化されたベクターを、N a n o D r o pを用いて定量化し、アガロースゲル電気泳動を用いて分析して線形化を確認する。

【0929】

非限定的な例として、G-C S Fは、目的とするポリペプチドを表し得る。実施例1～5に概説されるステップに使用される配列を、表12に示す。開始コドン(A T G)は、表12の各配列中に下線で示されていることに留意されたい。

表12. G-C S Fの配列

【表0012-1】

配列番号	記述
6592	c D N A配列: ATGGCTGGACCTGCCACCCAGAGCCCCATGAAGCTGATGGC CCTGCAGCTGCTGCTGTGGCACAGTGCACTCTGGACAGTGC AGGAAGCCACCCCCCTGGGCCCTGCCAGCTCCCTGCCCCAG AGCTTCCTGCTCAAGTGCTTAGAGCAAGTGAGGAAGATCCA GGGCGATGGCGCAGCGCTCCAGGAGAAGCTGTGTGCCACCT ACAAGCTGTGCCACCCGAGGAGCTGGTGCTGCTCGGACAC TCTCTGGGCATCCCCTGGGCTCCCCTGAGCAGCTGCCCCAG CCAGGCCCTGCAGCTGGCAGGCTGCTTGAGCCAACTCCATA GCGGCCTTTTCCTCTACCAGGGGCTCCTGCAGGCCCTGGAA GGGATCTCCCCGAGTTGGGTCCCACCTTGGACACACTGCA GCTGGACGTCGCCGACTTTGCCACCACCATCTGGCAGCAGA TGGAAGAACTGGGAATGGCCCTGCCCTGCAGCCCACCCAG GGTGCCATGCCGGCCTTCGCCTCTGCTTTCCAGCGCCGGGC AGGAGGGGTCTGGTTGCCTCCCATCTGCAGAGCTTCCTGG AGGTGTCGTACCGCGTTCTACGCCACCTTGCCAGCCCTGA
6593	T7ポリメラーゼ部位、A f e IおよびX b a制限部位を有するc D N A: TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGTAAGAAGAAATATAAGA GCCACC ATGGCTGGACCTGCCACCCAGAGCCCCATGAAGCTGATGGC CCTGCAGCTGCTGCTGTGGCACAGTGCACTCTGGACAGTGC AGGAAGCCACCCCCCTGGGCCCTGCCAGCTCCCTGCCCCAG AGCTTCCTGCTCAAGTGCTTAGAGCAAGTGAGGAAGATCCA GGGCGATGGCGCAGCGCTCCAGGAGAAGCTGTGTGCCACCT ACAAGCTGTGCCACCCGAGGAGCTGGTGCTGCTCGGACAC TCTCTGGGCATCCCCTGGGCTCCCCTGAGCAGCTGCCCCAG CCAGGCCCTGCAGCTGGCAGGCTGCTTGAGCCAACTCCATA GCGGCCTTTTCCTCTACCAGGGGCTCCTGCAGGCCCTGGAA GGGATCTCCCCGAGTTGGGTCCCACCTTGGACACACTGCA GCTGGACGTCGCCGACTTTGCCACCACCATCTGGCAGCAGA TGGAAGAACTGGGAATGGCCCTGCCCTGCAGCCCACCCAG GGTGCCATGCCGGCCTTCGCCTCTGCTTTCCAGCGCCGGGC AGGAGGGGTCTGGTTGCCTCCCATCTGCAGAGCTTCCTGG AGGTGTCGTACCGCGTTCTACGCCACCTTGCCAGCCCTGA AGCGCTGCCTTCTGCGGGGCTTGCCCTCTGGCCATGCCCTTC TTCTCTCCCTGCACCTGTACCTCTTGGTCTTTGAATAAAGCC TGAGTAGGAAGGCGCGCCTCGAGCATGCATCTAGA
6594	T7ポリメラーゼ部位、A f e IおよびX b a制限部位を含有する最適化された配列

10

20

30

40

【表 0012-2】

	TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAAGAGAGTAAGAAGAAATATAAGA GCCACC ATGGCCGGTCCCGCGACCCAAAGCCCCATGAACTTATGGCC CTGCAGTTGCTGCTTTGGCACTCGGCCCTCTGGACAGTCCAA GAAGCGACTCCTCTCGGACCTGCCTCATCGTTGCCGCACTCA TTCCTTTTGAAGTGTCTGGAGCAGGTGCGAAAGATTGAGGG CGATGGAGCCGCACTCCAAGAGAAGCTCTGCGCGACATACA AACTTTGCCATCCCGAGGAGCTCGTACTGCTCGGGCACAGCT TGGGGATTCCCTGGGCTCCTCTCTCGTCTGTCCTGTCGAGG CTTTGCAGTTGGCAGGGTGCCTTTCCAGCTCCACTCCGTT TGTTCTTGTATCAGGGACTGCTGCAAGCCCTTGAGGGAATCT CGCCAGAATTGGGCCCCGACGCTGGACACGTTGCAGCTCGAC GTGGCGGATTTGCAACAACCATCTGGCAGCAGATGGAGGA ACTGGGGATGGACCCCGCTGCAGCCACGCAGGGGGCAA TGCCGGCCTTTGCGTCCGCTTTTACGCGCAGGGCGGGTGA GTCCTCGTAGCGAGCCACCTTCAATCATTTTTGGAAGTCTCG TACCGGCTGCTGAGACATCTTGGCGAGCCGTGA AGCGCTGCCTTCTGCGGGGCTTGCCTTCTGGCCATGCCCTTC TTCTCTCCCTTGCACCTGTACCTCTTGGTCTTTGAATAAAGCC TGAGTAGGAAGGCGCGCGCTCGAGCATGCATCTAGA
6595	mRNA配列 (転写されたもの) GGGAAAUAGAGAGAAAAAGAGAGUAAGAAGAAAUUAAG AGCCACC AUGGCCGGUCCCGCGACCCAAAGCCCCAUGAAACUUAUGG CCCUGCAGUUGCUGCUUUGGCACUCGGCCUCUGGACAG UCCAAGAAGCGACUCCUCUCGGACCUCCUCAUCGUUGCC GCAGUCAUCCUUUUGAAGUGUCUGGAGCAGGUGCGAAA GAUUCAGGCGGAUGGAGCCGACUCCAAGAGAAGCUCUGC GCGACAUAACAACUUUGCCAUCGCGAGGAGCUCGUACUGC UCGGGCACAGCUUGGGGAUCCCCUGGGCUCCUCUCUGU CCUGUCCGUCGAGGCUUUGCAGUUGGCAGGGUGCCUUU CCCAGCUCCACUCCGGUUUGUUCUUGUAUCAGGGACUGC UGCAAGCCCUUGAGGGAAUCUCGCCAGAAUUGGGCCGAC GCUGGACACGUUGCAGCUCGACGUGGCGGAUUUCGCAACA ACCAUCUGGCAGCAGAUUGGAGGAACUGGGGAUGGACCCG CGCUGACGCCACGACAGGGGGCAAUGCCCGCCUUUGCGUC CGCGUUUCAGCGCAGGGCGGGUGGAGUCCUCGUAGCGAG CCACCUUCAAUCAUUUUUGGAAGUCUCGUACCGGGUGCU GAGACAUCUUGCGCAGCCGUGA AGCGCUGCCUUCUGCGGGGCUUGCCUUCUGGCCAUGCCC UUCUUCUCUCCUUGCACCUGUACCUCUUGGUCUUUGAA UAAAGCCUGAGUAGGAAG

10

20

30

【0930】

実施例 2 : cDNA 産生のための PCR

40

cDNA の調製のための PCR 手順を、Kapa Biosystems (ウーバン、マサチューセッツ州) による 2×KAPA HIFI (商標) Hot Start Ready Mix を用いて行う。このシステムには、2×KAPA Ready Mix 12.5 μl、順方向プライマー (10 μM) 0.75 μl、逆方向プライマー (10 μM) 0.75 μl、鋳型 cDNA 100 ng、および 25.0 μl に希釈した dH₂O が含まれる。反応条件は、95℃で 5 分間、98℃で 20 秒間を 25 サイクル、その後 58℃で 15 秒間、続いて 72℃で 45 秒間、次いで 72℃で 5 分間、次いで 4℃で終了までである。

【0931】

本発明の逆方向プライマーは、mRNA におけるポリ A₁₂₀ のためのポリ T₁₂₀ を組み込む。より長いまたは短いポリ (T) 路を有する他の逆方向プライマーを使用して

50

、mRNAにおけるポリ（A）尾部の長さを調節することができる。

【0932】

反応物を、製造業者の指示に従ってInvitrogenのPURELINK（商標）PCR Micro Kit（カルスバッド、カリフォルニア州）を用いて浄化する（5 µgまで）。より大規模な反応は、より大容量の製品を用いて浄化する必要がある。浄化した後、cDNAを、NanoDropを用いて定量化し、アガロースゲル電気泳動によって分析して、cDNAが予測した大きさであることを確認する。次いで、cDNAを、シーケンシング分析に出した後に、in vitro転写反応を進める。

【0933】

実施例3. in vitro転写（IVT）

10

in vitro転写反応により、修飾ヌクレオチドまたは修飾RNAを含有するmRNAを生成する。投入するヌクレオチドトリホスフェート（NTP）混合物は、天然および非天然のNTPを用いて自家作製したものである。

【0934】

典型的なin vitro転写反応物には、次のものが含まれる。

【0935】

鋳型cDNA 1.0 µg

【0936】

10倍転写緩衝液（400mM Tris-HCl pH8.0、190mM MgCl₂、50mM DTT、10mM スペルミジン）2.0 µl

20

【0937】

カスタムNTP（25mMずつ）7.2 µl

【0938】

RNase阻害剤 20 U

【0939】

T7 RNAポリメラーゼ 3000 U

【0940】

dH₂O 最大20.0 µl

【0941】

37℃で3時間～5時間のインキュベーション。

30

【0942】

粗製IVT混合物を、翌日の浄化のために4℃で一晩保管され得る。次いで、1 UのRNase不含DNaseを使用して、元の鋳型を消化させる。37℃で15分間のインキュベーションの後、mRNAを、製造業者の指示に従ってAmbionのMEGACLEAR（商標）キット（オースチン、テキサス州）を用いて精製する。このキットは、最大500 µgのRNAを精製することができる。浄化させた後、RNAを、NanoDropを用いて定量化し、アガロースゲル電気泳動によって分析して、RNAが適正な大きさであること、およびRNAの分解が生じていないことを確認する。

【0943】

実施例4. mRNAの酵素キャッピング

40

mRNAのキャッピングを、次のように行い、混合物には、IVT RNAが60 µg～180 µgおよびdH₂Oが最大72 µl含まれる。混合物を、65℃で5分間インキュベートしてRNAを変性させ、その後すぐに氷上に移す。

【0944】

このプロトコルは、次いで、10倍キャッピング緩衝液（0.5M Tris-HCl（pH8.0）、60mM KCl、12.5mM MgCl₂）（10.0 µl）、20mM GTP（5.0 µl）、20mM S-アデノシルメチオニン（2.5 µl）、RNase阻害剤（100 U）、2'-O-メチルトランスフェラーゼ（400 U）、ワクシニアキャッピング酵素（グアニリルトランスフェラーゼ）（40 U）、dH₂O（28 µlまで）、および60 µgのRNAについては37℃で30分間のインキュベーション

50

ンまたは180 μgのRNAでは最大2時間のインキュベーションを伴う。

【0945】

次いで、mRNAを、製造業者の指示に従ってAmbionのMEGACLEAR（商標）キット（オースチン、テキサス州）を用いて精製する。浄化させた後、RNAを、NANODROP（商標）（ThermoFisher、ウォルサム、マサチューセッツ州）を用いて定量化し、アガロースゲル電気泳動によって分析して、RNAが適正な大きさであること、およびRNAの分解が生じていないことを確認する。また、配列決定のためのcDNAを生成するために、RNA産物に、逆転写PCRを実行して配列決定を行ってもよい。

【0946】

10

実施例5．ポリAテーリング反応

cDNAにポリTがない場合、最終産物を浄化する前に、ポリAテーリング反応を行う必要がある。これは、キャップされたIVT RNA（100 μl）、RNase阻害剤（20 U）、10倍テーリング緩衝液（0.5 M Tris-HCl（pH 8.0）、2.5 M NaCl、100 mM MgCl₂）（12.0 μl）、20 mM ATP（6.0 μl）、ポリAポリメラーゼ（20 U）、dH₂O最大123.5 μlを混合し、37℃で30分間インキュベートすることによって行う。ポリA尾部が既に転写物中に存在する場合、テーリング反応を省略し、直接AmbionのMEGACLEAR（商標）kit（オースチン、テキサス州）（最大500 μg）での浄化に進んでもよい。ポリAポリメラーゼは、好ましくは、酵母に発現される組み換え酵素である。

20

【0947】

本明細書において実行および記載される試験においては、ポリA尾部は、160ヌクレオチド長を含むように、IVT鋳型にコードされる。しかしながら、ポリAテーリング反応の進行性または完全性は、常に正確に160個のヌクレオチドをもたらすわけではないことを理解されたい。したがって、約160ヌクレオチド、例えば、約150～165、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、または165のポリA尾部は、本発明の範囲内である。

【0948】

実施例6．天然の5'キャップおよび5'キャップ類似体

30

修飾RNAの5'キャッピングは、製造業者のプロトコルに従って、次の化学的RNAキャップ類似体を用いたin vitro転写反応の際に付随して完了し得、5'グアノシンキャップ構造が生成される：3'-O-Me-m⁷G（5'）ppp（5'）G [ARCAキャップ]、G（5'）ppp（5'）A、G（5'）ppp（5'）G、m⁷G（5'）ppp（5'）A、m⁷G（5'）ppp（5'）G（New England Bio Labs, Ipswich、マサチューセッツ州）。修飾RNAの5'キャッピングは、ワクシニアウイルスキャッピング酵素を用いて転写後に完了し、「キャップ0」構造：m⁷G（5'）ppp（5'）G（New England Bio Labs, Ipswich、マサチューセッツ州）を生成し得る。キャップ1構造は、ワクシニアウイルスキャッピング酵素および2'-Oメチルトランスフェラーゼの両方を用いて生成され得、m⁷G（5'）ppp（5'）G-2'-O-メチルが得られる。キャップ2構造は、2'-Oメチルトランスフェラーゼを用いて、5'末端から3番目のヌクレオチドの2'-O-メチル化の後に、キャップ1構造から生成され得る。キャップ3構造は、2'-Oメチルトランスフェラーゼを用いて、5'末端から4番目のヌクレオチドの2'-O-メチル化の後に、キャップ2構造から生成され得る。酵素は、好ましくは組み換え源に由来する。

40

【0949】

哺乳動物細胞に形質移入する場合、修飾mRNAは、12～18時間、または18時間を超える、例えば、24、36、48、60、72、もしくは72時間を超える安定性を有する。

【0950】

50

実施例 7. キャッピング

A. タンパク質発現アッセイ

【0951】

A R C A (3 ' O - M e - m 7 G (5 ') p p p (5 ') G) キャップ類似体またはキャップ 1 構造を含有する、ヒト G - C S F をコードする合成 m R N A (c D N A は配列番号 6 5 6 7 に示され、各シトシンにおける 5 - メチルシチジンおよび各シチジン部位におけるシュードウリジン置換で完全に修飾された m R N A 配列は配列番号 6 5 7 0 に示され、約 1 6 0 ヌクレオチド (n u c l e o t i d i e) 長のポリ A 尾部は配列内には示されない) を、等濃度でヒト初代ケラチノサイトに形質移入することができる。形質移入の 6、12、24、および 36 時間後に、培養培地に分泌された G - C S F の量を、E L I S A によってアッセイすることができる。培地中により高レベルの G - C S F を分泌する合成 m R N A は、より高度は翻訳的にコンピテントなキャップ構造を有する合成 m R N A に対応する。

10

【0952】

B. 純度分析合成

A R C A キャップ類似体またはキャップ 1 構造の粗製合成産物を含有する、ヒト G - C S F をコードする合成 m R N A (c D N A は配列番号 6 5 6 7 に示され、各シトシンにおける 5 - メチルシチジンおよび各シチジン部位におけるシュードウリジン置換で完全に修飾された m R N A 配列は配列番号 6 5 7 0 に示され、約 1 6 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部は配列内に示されない) を、変性アガロース-尿素ゲル電気泳動または H P L C 分析を用いて、純度について比較することができる。電気泳動により単一の集約された帯域を有する合成 m R N A は、複数の帯域または筋状の帯域を有する合成 m R N A と比較して、より高い純度の産物に対応する。単一の H P L C ピークを有する合成 m R N A もより高い純度の産物に対応する。より高効率のキャッピング反応により、より純粋な m R N A 集団が得られる。

20

【0953】

C. サイトカイン分析

A R C A キャップ類似体またはキャップ 1 構造を含有する、ヒト G - C S F をコードする合成 m R N A (c D N A は配列番号 6 5 6 7 に示され、各シチジンにおける 5 - メチルシチジンおよび各ウリジン部位におけるシュードウリジン置換により完全に修飾された m R N A 配列は配列番号 6 5 7 0 に示され、約 1 6 0 ヌクレオチド長のポリ A 尾部は配列内に示されない) を、複数の濃度でヒト初代ケラチノサイトに形質移入することができる。形質移入の 6、12、24、および 36 時間後に、培養培地に分泌された T N F - α および I F N - β 等の炎症促進性サイトカインの量を、E L I S A によってアッセイすることができる。培地中により高レベルの炎症促進性サイトカインを分泌する合成 m R N A は、免疫活性化キャップ構造を有する合成 m R N A に対応する。

30

【0954】

D. キャッピング反応効率

A R C A キャップ類似体またはキャップ 1 構造を含有する、ヒト G - C S F をコードする合成 m R N A (c D N A は配列番号 6 5 6 7 に示される、各シチジンにおける 5 - メチルシチジンおよび各ウリジン部位におけるシュードウリジン置換により完全に修飾された m R N A 配列は各シトシンにおける配列番号 6 5 7 0 に示され、約 1 6 0 ヌクレオチド長のポリ A 尾部は、配列内に示されない) を、キャップされた m R N A のヌクレアーゼ処理の後に、L C - M S によってキャッピング反応効率について分析することができる。キャップされた m R N A のヌクレアーゼ処理により、L C - M S によって検出可能な遊離ヌクレオチドとキャップされた 5' - 5' トリホスフェートキャップ構造の混合物が得られる。L C - M S スペクトル上のキャップされた生成物の量は、反応からの全 m R N A の割合として表すことができ、キャッピング反応効率に対応するであろう。より高いキャッピング反応効率を有するキャップ構造は、L C - M S により、より高い量のキャップされた生成物を有するであろう。

40

50

【0955】

実施例8. 修飾RNAまたはRT-PCR産物のアガロースゲル電気泳動

個々の修飾RNA (20 µl 体積中200~400 ng) または逆転写されたPCR産物 (200~400 ng) を、非変性1.2%アガロースE-ゲル (Invitrogen、カールスバッド、カルフォルニア州) のウェルに充填し、製造業者のプロトコルに従って12~15分間泳動させる。

【0956】

実施例9. Nanodrop修飾RNAの定量化およびUVスペクトルデータ

TE緩衝液 (1 µl) 中の修飾RNAを、Nanodrop UV吸光読み取りに使用して、in vitro転写反応からの各RNAの収率を定量化する。

10

【0957】

実施例10. シグナルセンサーポリヌクレオチドの製剤化

シグナルセンサーポリヌクレオチドを、in vitroおよびin vivo実験のために製剤化してもよく、2012年12月14日に提出された国際出願番号第PCT/US12/069610号に教示の方法に従い、内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0958】

実施例11. シグナルセンサーポリヌクレオチドの検出または分析のアッセイおよび方法

シグナルセンサーポリヌクレオチドを、同時係属出願の2013年3月9日に提出された国際出願番号第PCT/US2013/030070号および2012年8月10日に提出された米国特許第61/681,742号 (MNC2) に記載の方法を使用して観察してもよく、内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

20

【0959】

実施例12. シグナルセンサーポリヌクレオチドの試験のための細胞株

シグナルセンサーポリヌクレオチドを任意の数の癌または正常な細胞株で研究してもよい。本発明に有用な細胞株として、ATCC (マナサス、バージニア州) のものが挙げられ、表13に列挙する。

表13. 細胞株

【表 0 0 1 3 - 1】

ATCC 番号	ハイブリドーマまたは細胞株の記述	名前
CCL-171	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 正常 細胞型: 線維芽細胞	MRC-5
CCL-185	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 癌腫	A549
CCL-248	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 結腸 疾患: 結腸直腸癌 転移部から由来: 肺	T84
CCL-256	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌 転移部から由来: 胸水	NCI-H2126 [H2126]
CCL-257	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌	NCI-H1688 [H1688]
CCL-75	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 正常 細胞型: 線維芽細胞	WI-38
CCL-75.1	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 細胞型: 線維芽細胞癌化SV40	WI-38 VA-13 subline 2RA
CCL-95.1	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 細胞型: 癌化SV40	WI-26 VA4
CRL-10741	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肝臓 疾患: 肝細胞癌	C3A [HepG2/C3A, derivative of Hep G2 (ATCC HB-8065)]
CRL-11233	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肝臓 組織: 左葉 細胞型: SV40大細胞で不死化した上皮	THLE-3
CRL-11351	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌; 多剤耐性 細胞型: 上皮	H69AR
CRL-1848	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 粘膜表皮性肺癌	NCI-H292 [H292]
CRL-1918	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 膵臓 疾患: 膵管癌; 嚢胞性線維症 転移部から由来: 肝臓 転移	CFPAC-1
CRL-1973	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 精巣 疾患: 悪性多能性胚性癌腫 転移部から由来: 肺	NTERA-2 cl.D1 [NT2/D1]
CRL-2049	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺	DMS 79

10

20

30

【表 0 0 1 3 - 2】

	疾患: 癌腫; 小細胞肺癌		
CRL-2062	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌	DMS 53	
CRL-2064	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌 転移部から由来: 肝臓	DMS 153	
CRL-2066	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌	DMS 114	
CRL-2081	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 二相中皮腫 転移部から由来: 肺	MSTO-211H	
CRL-2170	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 細気管支肺胞上皮癌	SW 1573 [SW-1573, SW1573]	
CRL-2177	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌	SW 1271 [SW-1271, SW1271]	
CRL-2195	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌 細胞型: 大細胞, 変異体;	SHP-77	
CRL-2233	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肝臓 疾患: 肝細胞癌	SNU-398	
CRL-2234	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肝臓 腫瘍の病期: グレード II-III/IV 疾患: 肝細胞癌	SNU-449	
CRL-2235	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肝臓 腫瘍の病期: グレード III/IV 疾患: 肝細胞癌	SNU-182	
CRL-2236	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肝臓 腫瘍の病期: グレード II-IV/IV 疾患: 肝細胞癌	SNU-475	
CRL-2237	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肝臓 腫瘍の病期: グレード IV/V 疾患: 多形性 肝細胞癌	SNU-387	
CRL-2238	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肝臓 腫瘍の病期: グレード III/IV 疾患: 多形性 肝細胞癌	SNU-423	
CRL-2503	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 組織: 気管支 疾患: 正常	NL20	
CRL-2504	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 組織: 気管支	NL20-TA [NL20T-A]	

10

20

30

【表 0013-3】

	疾患: 正常		
CRL-2706	ホモサピエンス(ヒト)源: 組織: 細胞型: 上皮癌化SV40	臓器: 肝臓 左葉	THLE-2
CRL-2741	ホモサピエンス(ヒト)源: 組織: 細胞型: 癌化した上皮HPV-16 E6/E7	臓器: 肺 気管支	HBE135-E6E7
CRL-2868	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 細胞型: 上皮	臓器: 肺 腺癌	HCC827
CRL-2871	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 細胞型: 上皮	臓器: 肺 腺癌 胸水	HCC4006
CRL-5800	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	臓器: 肺	NCI-H23 [H23]
CRL-5803	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: リンパ節	臓器: 肺 非小細胞肺癌	NCI-H1299
CRL-5804	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 胸水	臓器: 肺 古典的肺小細胞癌	NCI-H187 [H187]
CRL-5807	ホモサピエンス(ヒト)源: 組織: 疾患: 気管支肺胞上皮癌; 非小細胞肺癌	臓器: 肺 肺胞	NCI-H358 [H-358, H358]
CRL-5808	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: 胸水	臓器: 肺 ステージ E 癌腫; 古典的肺小細胞癌	NCI-H378 [H378]
CRL-5810	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	臓器: 肺 ステージ 2	NCI-H522 [H522]
CRL-5811	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: 骨髄	臓器: 肺 ステージ E 癌腫; 変異体 小細胞肺癌	NCI-H526 [H526]
CRL-5815	ホモサピエンス(ヒト)源: 組織: 疾患: カルチノイド	臓器: 肺 気管支	NCI-H727 [H727]

10

20

30

【表 0 0 1 3 - 4】

CRL-5816	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 癌腫; 非小細胞肺癌	臓器: ステージ 2	肺	NCI-H810 [H810]
CRL-5817	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 癌腫; 転移部から由来: リンパ節	臓器: ステージ 古典的肺小細胞癌	肺 E	NCI-H889 [H889]
CRL-5818	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 癌腫; 転移部から由来: リンパ節	臓器: 非小細胞肺癌	肺	NCI-H1155 [H1155]
CRL-5819	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: リンパ節	臓器: 乳頭腺癌	肺	NCI-H1404 [H1404]
CRL-5822	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 肝臓	臓器: 胃癌	胃	NCI-N87 [N87]
CRL-5823	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 癌腫; 転移部から由来: 胸水	臓器: ステージ 変異体 小細胞肺癌	肺 E	NCI-H196 [H196]
CRL-5824	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 癌腫; 転移部から由来: 骨髄	臓器: ステージ 小細胞肺癌	肺 E	NCI-H211 [H211]
CRL-5825	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 癌腫; 転移部から由来: 胸水	臓器: ステージ 古典的肺小細胞癌	肺 E	NCI-H220 [H220]
CRL-5828	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 癌腫; 転移部から由来: 脳	臓器: ステージ 古典的肺小細胞癌	肺 E	NCI-H250 [H250]
CRL-5831	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 癌腫; 転移部から由来: リンパ節	臓器: ステージ 変異体 小細胞肺癌	肺 L	NCI-H524 [H524]
CRL-5834	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 腺扁平上皮癌; 非小細胞肺癌	臓器: ステージ 3A	肺	NCI-H647 [H647]

10

20

30

【表 0 0 1 3 - 5】

	転移部から由来: 胸水			
CRL-5835	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 気管支肺胞上皮癌; 転移部から由来: リンパ節	臓器: 肺	NCI-H650 [H650]	
CRL-5836	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌 転移部から由来: 骨髄	臓器: 肺	NCI-H711 [H711]	
CRL-5837	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌 転移部から由来: 骨髄	臓器: 肺	NCI-H719 [H719]	
CRL-5840	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌 転移部から由来: リンパ節	臓器: 肺	NCI-H740 [H740]	
CRL-5841	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌 転移部から由来: リンパ節	臓器: 肺	NCI-H748 [H748]	
CRL-5842	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌 転移部から由来: 軟組織	臓器: 肺	NCI-H774 [H774]	
CRL-5844	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 3B 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌 転移部から由来: リンパ節	臓器: 肺	NCI-H838 [H838]	
CRL-5845	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: ステージ L 疾患: 癌腫; 変異体 小細胞肺癌 転移部から由来: リンパ節	臓器: 肺	NCI-H841 [H841]	
CRL-5846	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: ステージ L 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌 転移部から由来: 胸水	臓器: 肺	NCI-H847 [H847]	
CRL-5849	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: ステージ L 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌	臓器: 肺	NCI-H865 [H865]	

10

20

30

【表 0013-6】

	転移部から由来: 胸水	
CRL-5850	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 4 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌 転移部から由来: リンパ節	NCI-H920 [H920]
CRL-5853	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌 転移部から由来: 胸水	NCI-H1048 [H1048]
CRL-5855	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌 転移部から由来: 骨髄	NCI-H1092 [H1092]
CRL-5856	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌 転移部から由来: リンパ節	NCI-H1105 [H1105]
CRL-5858	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ L 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌 転移部から由来: リンパ節	NCI-H1184 [H1184]
CRL-5859	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌 転移部から由来: 骨髄	NCI-H1238 [H1238]
CRL-5864	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌 転移部から由来: cervix	NCI-H1341 [H1341]
CRL-5867	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 3A 疾患: 癌腫; 非小細胞肺癌 転移部から由来: リンパ節	NCI-H1385 [H1385]
CRL-5869	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌	NCI-H1417 [H1417]
CRL-5870	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	NCI-H1435 [H1435]
CRL-5871	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌	NCI-H1436 [H1436]

10

20

30

【表 0 0 1 3 - 7】

	転移部から由来: リンパ節	
CRL-5872	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 1 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌 転移部から由来: 胸水	NCI-H1437 [H1437]
CRL-5874	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌 転移部から由来: 胸水	NCI-H1522 [H1522]
CRL-5875	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	NCI-H1563 [H1563]
CRL-5876	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌 転移部から由来: リンパ節	NCI-H1568 [H1568]
CRL-5877	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 4 疾患: 腺癌 転移部から由来: 軟組織	NCI-H1573 [H1573]
CRL-5878	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 4 疾患: 非小細胞肺癌 細胞型: 大細胞;	NCI-H1581 [H1581]
CRL-5879	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌 転移部から由来: 骨髄	NCI-H1618 [H1618]
CRL-5881	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 3B 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌 転移部から由来: リンパ節	NCI-H1623 [H1623]
CRL-5883	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 3B 疾患: 腺癌; 細気管支肺胞上皮癌 転移部から由来: 胸水	NCI-H1650 [H-1650, H1650]
CRL-5884	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	NCI-H1651 [H1651]
CRL-5885	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 腺癌; 細気管支肺胞上皮癌 転移部から由来: 胸水	NCI-H1666 [H-1666, H1666]
CRL-5886	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺	NCI-H1672 [H1672]

10

20

30

【表 0 0 1 3 - 8】

	腫瘍の病期: ステージ L 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌	
CRL-5887	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 3B 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌 転移部から由来: リンパ節	NCI-H1693 [H1693]
CRL-5888	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌 転移部から由来: 腹水	NCI-H1694 [H1694]
CRL-5889	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 1 疾患: 非小細胞肺癌 細胞型: 鱗状細胞;	NCI-H1703 [H1703]
CRL-5891	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	NCI-H1734 [H-1734, H1734]
CRL-5892	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 4 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌 転移部から由来: 肝臓	NCI-H1755 [H1755]
CRL-5892	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 4 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌 転移部から由来: 肝臓	NCI-H1755 [H1755]
CRL-5893	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 4 疾患: 癌腫; 非小細胞肺癌 転移部から由来: リンパ節 細胞型: 神経内分泌;	NCI-H1770 [H1770]
CRL-5896	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	NCI-H1793 [H1793]
CRL-5898	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ L 疾患: 癌腫; 古典的肺小細胞癌	NCI-H1836 [H1836]
CRL-5899	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	NCI-H1838 [H1838]
CRL-5900	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 4 疾患: 非小細胞肺癌	NCI-H1869 [H1869]

10

20

30

【表 0013-9】

	転移部から由来: 細胞型: 鱗状細胞;	胸水	
CRL-5902	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: リンパ節	臓器: ステージ 癌腫: 古典的肺小細胞癌	肺 E NCI-H1876 [H1876]
CRL-5903	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: 骨髄	臓器: ステージ 癌腫: 小細胞肺癌	肺 E NCI-H1882 [H1882]
CRL-5904	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: 細胞型: 大細胞;	臓器: ステージ 低分化癌: 非小細胞肺癌 脳	肺 4 NCI-H1915 [H1915]
CRL-5906	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: リンパ節	臓器: ステージ 癌腫: 古典的肺小細胞癌	肺 L NCI-H1930 [H1930]
CRL-5907	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: 軟組織	臓器: ステージ 腺癌: 非小細胞肺癌	肺 3B NCI-H1944 [H1944]
CRL-5908	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	臓器:	肺 NCI-H1975 [H-1975, H1975]
CRL-5909	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: リンパ節	臓器: ステージ 腺癌: 非小細胞肺癌	肺 3A NCI-H1993 [H1993]
CRL-5912	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: リンパ節	臓器: ステージ 腺癌: 非小細胞肺癌	肺 3A NCI-H2023 [H2023]
CRL-5913	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: リンパ節	臓器: ステージ 癌腫: 小細胞肺癌	肺 E NCI-H2029 [H2029]
CRL-5914	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 腺癌;	臓器: 非小細胞肺癌	肺 NCI-H2030 [H2030]

10

20

30

【表 0 0 1 3 - 1 0】

	転移部から由来: リンパ節			
CRL-5917	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 混合; 小細胞肺癌; 腺癌; 鱗状細胞 癌腫	臓器: ステージ 1	肺	NCI-H2066 [H2066]
CRL-5918	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	臓器: ステージ 3A	肺	NCI-H2073 [H2073]
CRL-5920	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: 胸水	臓器: ステージ E 古典的肺小細胞癌	肺	NCI-H2081 [H2081]
CRL-5921	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	臓器:	肺	NCI-H2085 [H2085]
CRL-5922	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: リンパ節	臓器: ステージ 1	肺	NCI-H2087 [H2087]
CRL-5923	ホモサピエンス(ヒト)源: 組織: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: リンパ節	臓器: ステージ 4 非小細胞肺癌	肺 神経内分泌	NCI-H2106 [H2106]
CRL-5924	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 胸水	臓器: 非小細胞肺癌	肺	NCI-H2110 [H2110]
CRL-5926	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 非小細胞肺癌	臓器:	肺	NCI-H2135 [H2135]
CRL-5927	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: リンパ節	臓器: ステージ E 小細胞肺癌	肺	NCI-H2141 [H2141]
CRL-5929	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: 胸水	臓器: ステージ E 小細胞肺癌	肺	NCI-H2171 [H2171]
CRL-5930	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 非小細胞肺癌	臓器:	肺	NCI-H2172 [H2172]
CRL-5931	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期:	臓器: ステージ E	肺	NCI-H2195 [H2195]

10

20

30

【表 0 0 1 3 - 1 1】

	疾患: 癌腫; 小細胞肺癌 転移部から由来: 骨髄	
CRL-5932	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌 転移部から由来: 骨髄	NCI-H2196 [H2196]
CRL-5933	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌 転移部から由来: リンパ節	NCI-H2198 [H2198]
CRL-5934	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ E 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌	NCI-H2227 [H2227]
CRL-5935	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	NCI-H2228 [H2228]
CRL-5938	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 1 疾患: 混合; 小細胞肺癌; 腺癌; 鱗状細胞 癌腫	NCI-H2286 [H2286]
CRL-5939	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌 転移部から由来: リンパ節	NCI-H2291 [H2291]
CRL-5940	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ L 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌 転移部から由来: リンパ節	NCI-H2330 [H2330]
CRL-5941	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 3A 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	NCI-H2342 [H2342]
CRL-5942	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 1 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌	NCI-H2347 [H2347]
CRL-5944	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: ステージ 4 疾患: 腺癌; 非小細胞肺癌 転移部から由来: 腹水	NCI-H2405 [H2405]
CRL-5945	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 非小細胞肺癌	NCI-H2444 [H2444]
CRL-5975	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: カルチノイド	UMC-11

10

20

30

【表 0 0 1 3 - 1 2】

CRL-5976	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: リンパ節	臓器: ステージ 癌腫; 小細胞肺癌	肺 E	NCI-H64 [H64]
CRL-5978	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: 肝臓	臓器: ステージ 癌腫; 小細胞肺癌	肺 E	NCI-H735 [H735]
CRL-5978	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: 肝臓	臓器: ステージ 癌腫; 小細胞肺癌	肺 E	NCI-H735 [H735]
CRL-5982	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌	臓器: ステージ	肺 L	NCI-H1963 [H1963]
CRL-5983	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: 骨髄	臓器: ステージ 癌腫; 小細胞肺癌	肺 E	NCI-H2107 [H2107]
CRL-5984	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: 骨髄	臓器: ステージ 癌腫; 小細胞肺癌	肺 E	NCI-H2108 [H2108]
CRL-5985	ホモサピエンス(ヒト)源: 腫瘍の病期: 疾患: 転移部から由来: 胸水	臓器: ステージ 腺癌; 非小細胞肺癌	肺 4	NCI-H2122 [H2122]
CRL-7343	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: cancer	臓器:	肺	Hs 573.T
CRL-7344	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺			Hs 573.Lu
CRL-8024	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 細胞型: アレキサンダー細胞;	臓器: 肝臓 肝臓		PLC/PRF/5
CRL-9609	ホモサピエンス(ヒト)源: 組織: 疾患: 細胞型: 癌化したepithelialvirus	臓器: 気管支 正常	肺	BEAS-2B
HB-8065	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 肝細胞癌	臓器: 肝臓		Hep G2

10

20

30

【表 0 0 1 3 - 1 3】

HTB-105	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 肺	臓器: 胎生期癌, 悪性	精巣 悪性	Tera-1
HTB-106	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 肺	臓器: 悪性 胎生期癌		Tera-2
HTB-119	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 癌腫; 小細胞肺癌	臓器: 肺		NCI-H69 [H69]
HTB-120	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 胸水	臓器: 癌腫; 小細胞肺癌	肺 小細胞肺癌	NCI-H128 [H128]
HTB-168	ホモサピエンス(ヒト)源: 組織: 疾患: 気管支原性癌	臓器: 肺 気管支		ChaGo-K-1
HTB-171	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 胸水	臓器: 癌腫; 小細胞肺癌	肺 小細胞肺癌	NCI-H446 [H446]
HTB-172	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 骨髄	臓器: 癌腫; 小細胞肺癌	肺 小細胞肺癌	NCI-H209 [H209]
HTB-173	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 骨髄	臓器: 癌腫; 小細胞肺癌	肺 小細胞肺癌	NCI-H146 [H146]
HTB-174	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 乳頭腺癌	臓器: 肺		NCI-H441 [H441]
HTB-175	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 胸水	臓器: 癌腫; 小細胞肺癌	肺 小細胞肺癌	NCI-H82 [H82]
HTB-177	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 胸水	臓器: 癌腫; 大細胞肺癌	肺 大細胞肺癌	NCI-H460 [H460]
HTB-178	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 腺扁平上皮癌	臓器: 肺		NCI-H596 [H596]
HTB-179	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 胸水	臓器: 肺 腺癌		NCI-H676B [H676B]
HTB-180	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 転移部から由来: 骨髄	臓器: 癌腫; 小細胞肺癌	肺 小細胞肺癌	NCI-H345 [H345]
HTB-181	ホモサピエンス(ヒト)源:	臓器: 肺		NCI-H820 [H820]

10

20

30

【表 0013-14】

	疾患: 乳頭腺癌 転移部から由来: リンパ節	
HTB-182	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 鱗状細胞 癌腫	NCI-H520 [H520]
HTB-183	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 癌腫: 大細胞肺癌 転移部から由来: リンパ節	NCI-H661 [H661]
HTB-184	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 癌腫: 小細胞肺癌; 肺外由来 転移部から由来: 副腎	NCI-H510A [H510A, NCI-H510]
HTB-52	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肝臓 組織: 腹水 疾患: 腺癌	SK-HEP-1
HTB-53	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 癌腫	A-427
HTB-54	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: グレード III 疾患: 類表皮癌 転移部から由来: 肋膜	Calu-1
HTB-55	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 腺癌 転移部から由来: 胸水	Calu-3
HTB-56	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 未知、おそらく肺 疾患: 退形成性癌	Calu-6
HTB-57	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 腺癌	SK-LU-1
HTB-58	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 疾患: 鱗状細胞 癌腫 転移部から由来: 胸水	SK-MES-1
HTB-59	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 肺 腫瘍の病期: グレード IV 疾患: 鱗状細胞 癌腫	SW 900 [SW-900, SW900]
HTB-64	ホモサピエンス(ヒト)源: 疾患: 悪性メラノーマ 転移部から由来: 肺	Malme-3M
HTB-79	ホモサピエンス(ヒト)源: 臓器: 膵臓 疾患: 腺癌 転移部から由来: 肝臓	CAPan-1

10

20

30

【0960】

実施例 13. シグナルセンサーポリヌクレオチド試験のための動物モデル

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドの試験のために様々な動物モデルを使用することができる。とりわけ肺癌および肝癌についてのモデルが挙げられる。

【0961】

Fukazawaらの肺癌モデル (Anticancer Research、2010; 30: 4193-4200) をシグナルセンサーポリヌクレオチドの試験に適用する。簡潔に言えば、コンジェニックマウスが、K R A S 変異—陽性肺癌モデルマウスで普遍的に発現しているドミナントネガティブのMyc (Omomyc) マウスを交配することによって作成される。Omomyc の存在下では、突然変異したK R A S の発現によって引き起こされる肺腫瘍がコンジェニックマウスでは退行し、Omomyc がK R A S 変異陽性肺癌の腫瘍細胞死を引き起こしたことを示している。

40

50

【0962】

ヒト肺癌異種移植片はまた、Fukazawaの方法によって調製される。簡潔には、ヒト肺癌異種移植片を、背側脇腹に4倍の 10^6 のA549細胞の皮下接種によって4週齢の雌BALB/cヌードマウス(Charles River Laboratories Japan、神奈川県、日本)に確立する。マウスを無作為に6群($n=6$ /群)に割り当てる。腫瘍の直径が約0.5cm(腫瘍接種後約6日)に到達した後、各群のマウスに、選択された投与方法について、dorsal flank腫瘍にPBS、 5×10^{10} vpの対照または信号センサポリヌクレオチドを含む $100 \mu\text{l}$ の溶液を注射する。動物を近くで観察し、survival studies or 他の分析を行う。

【0963】

LSL-KRAS^{G12D}:TRE Omomyc:CMV rtTAのトリプルトランスジェニックモデルは、floxed終止コドンの切除によって、癌遺伝子の発現を誘導するために、吸入を介して投与されるCreリコンビナーゼを発現するアデノウイルスの使用することを含み、広範なOmomyc発現をドキシサイクリンによって制御する。モデルはSoucekら(Nature、1-5(2008))に報告されている。SoucekのマウスはLSL-KRAS^{G12D}単一のトランスジェニックマウス(Jackson Laboratories)と交配することができ、MYC阻害剤Dまたはポリペプチドが関連する他の腫瘍を発現するシグナルセンサーポリヌクレオチドの吸入送達または他の肺送達の試験に使用することができる。

【0964】

マウスインマウスモデルを使用してもよい。当該モデルは、ツェンダーのHCCモデルを過剰発現するp53-/-:c-Mycに似ている(Cell、2006 June 30;125(7):1253-1267)。

【0965】

当該モデルの設計は、WTまたは腫瘍抑制因子が削除された(p53-/-等)129 Sv/EvのMm ES細胞クローンから始まり、肝臓活性化タンパク質(LAP)プロモーター向けテトラサイクリントランス活性化因子(tTA)および肝臓特異的イメージングのためのtetO-オールシフェラーゼの導入、得られたLAP-tTAの凍結、tetO-オールシフェラーゼをクローン化し、c-Mycおよび他の肝臓関連のプログラム癌遺伝子に使用すること、tetO駆動癌遺伝子、例えばtetOcMycの追加、得られるLAP-tTA:tetO-オールシフェラーゼ:tetO-MYCクロンの凍結、得られたESクローンをC57Bl/6胚細胞に注射し、擬似妊娠中の母親に移植し、それによって得られたキメラ動物はドキシサイクリンの除去(すなわちTet-Off)の際に腫瘍モデルとなる。このモデルは、理想的には、正常な肝細胞に囲まれるc-Myc駆動、オールシフェラーゼを発現するHCCの誘導性小結節を明示する。

【0966】

また、マウスのHEP3B細胞株を用いた同所性HCCのモデルを、使用してもよい(Crown Bio)。

【0967】

非生殖細胞系遺伝子操作されたマウスモデル(NGEMM)プラットフォームは、シグナルセンサーポリヌクレオチドを探索するために利用することもできるプラットフォームである。

【0968】

実施例14. HIF1- α の阻害:SHARP1およびCITED4

低酸素誘導因子(HIF)は、酸素欠乏に対する細胞の適応を制御する。癌細胞は、不利な条件での成長を維持するためにHIFと関わり、代謝、増殖、生存および移動を含む細胞再プログラムを促進する。ヒト癌生検のHIFの過剰発現は、高転移および死亡率と相関する。

【0969】

HIFは、GLUT1、GLUT3、ALDOA、ENO1、GAPDH、HK1、H

10

20

30

40

50

K2、PFKL、PGK1、PKM2、LDHA等代謝、IGF-2、TGFA、VEGFA等の増殖、TERT、NANOG、OCT4等の生存、ZEB1、ZEB2、SNAI2、MMP14、MMP9、AMF、MET、PTHrP等の細胞移動-侵入に関連する遺伝子を制御する（Keithら、Nat Rev Cancer 2012；12：9-22）。

【0970】

癌の不安定化を調べるために、1つ以上のシグナルセンサーポリヌクレオチドを、癌細胞に投与することができる。配列、用量または投与経路の選択は、細胞、腫瘍、組織または生物の診断評価によって知らされてもよく、限定されないが、癌の発現プロファイリング、代謝の評価（低酸素、アシドーシス）、アポトーシス対生存プロファイリング、細胞周期対老化プロファイリング、免疫感受性、および／または間質因子の評価が挙げられる。

10

【0971】

腫瘍関連ポリペプチドのいずれかまたは両方をコードする試験シグナルセンサーポリヌクレオチドのアームでは、CITED4とSHARP1のいずれかまたは両方が、癌細胞におけるHIF-1 α のトランスクリプトームの阻害をもたらす場所に投与される。HIF-1 α 遺伝子の制御された発現の抑制は、両方のポリヌクレオチドと一緒に投与する場合、より高い抑制で投与されるときに発生する。HIF-1 α の下でルシフェラーゼ等のレポーター構築物は、van de Sluisらによって開示された方法に類似する様式で使用される（J Clin Invest. 2010；120（6）：2119-2130）。CITED4とSHARP1の両方の発現によって、HIF-1 α が減少し、HIF-1 α 制御遺伝子発現が同時に減少することが知られている。細胞死および／または増殖の評価も行う。

20

【0972】

追加の実験は、低酸素条件下で、CITED4とSHARP1がそれ自体下方制御される癌細胞株を使用することを含む。したがって、陽性の結果は、シグナルセンサーセンサーポリヌクレオチドを経由して、天然タンパク質を置換して、代謝プロファイル（この場合、CITED4とSHARP1の低酸素適応）を特に標的とすることが、直接的にこのプロファイルで、癌細胞のトランスクリプトームおよび生存優位性に影響を与えることができることを実証する。さらに、データは、低酸素条件下でシグナルセンサーポリヌクレオチド対ビヒクルの相対的影響が、正常細胞よりも癌細胞により顕著であったことを示す。（すなわち、癌細胞は、それらのCITED4+SHARP1下方制御に基づいて、不均衡な生存優位性を持っている）当該タンパク質の置換により感受性を持たせ、その後、正常な細胞がそれを過剰産生する。癌細胞はおそらく低酸素状態を経験し、正常な細胞は生存率有意性について、HIF-1 α トランスクリプトームに依存しないため、正常酸素圧条件下で、CITED4とSHARP1の過剰発現を許容することができることが理解される。

30

【0973】

HIF-1 α は転移の場合に最大部分の有利性を与えるように思われるため、動物モデルが癌の設定の転移を表すものであるin vitro実験の設計に従って、in vivo実験を行う。無処置または対照ポリヌクレオチドと比較して、動物にシグナルセンサーポリヌクレオチドを投与する。その後、動物細胞、組織および／または器官を、遺伝子発現プロファイルまたはトランスクリプトームレベルの変化について評価する。

40

【0974】

実施例15. シグナルセンサーポリヌクレオチド輸送の変更：NLSおよびNES

本発明のシグナルセンサーポリヌクレオチドに組み込むことができる2つの核輸出シグナル（NES）は、ミュラーらによって報告されたものを含み（Traffic, 2009, 10：514-527）、遺伝子COMM1を介したシグナル伝達に関連している。これらはNES1、PVAIIIELEL（配列番号6596）およびNES2、VNQILKTLSL（配列番号6597）である。

50

【0975】

核局在化シグナルも使用することもできる。当該配列は、P K K K R K V（配列番号：6598）である。

【0976】

細胞株またはマウスに、その中にコードされたN L SまたはN E Sを有する1つ以上のシグナルセンサーポリヌクレオチドを投与する。投与時、ポリヌクレオチドを代わりの場所、例えば、N L Sを使用して核内に輸送する。N L Sを有する癌関連ポリペプチドは、それが核微小環境に生存しているまたは死んだシグナルのいずれかを伝達する核に輸送されることになる。核に局在化することができるポリペプチドとして、細胞、組織または生物に治療上有益な様式で、細胞の発現プロファイルを変更するために機能するD N Aについて改変された結合特性を有するものが挙げられる。

10

【0977】

1つの実験では、シグナルセンサーポリヌクレオチドを、M u l l e r ら（T r a f f i c 2009；10：514-527）およびv a n d e S l u i s ら、（J C l i n I n v e s t . 2010；120（6）：2119-2130）の方法に従って、C O M M D 1 m u t 1 / m u t 2 + N L S（例えば、攪乱されたN E Sシグナルと加えられたN L Sの両方）をコードする。シグナル配列は、腫瘍関連ポリペプチドまたは翻訳可能ではないスクランブル配列をコードすることができる。コードされるシグナル配列はH I F 1- α と相互作用し、癌細胞のトランスクリプトームを変更する。

【0978】

実験は、正常および低酸素条件下で繰り返される。

20

【0979】

一度特定されると、H I F 1- α 依存シグナルセンサーポリヌクレオチドを、癌細胞系クローン生存で試験し、またはアポトーシスのマーカーを測定し、対照またはモック処理細胞と比較する。

【0980】

実施例16． 原発性肝細胞癌（H C C）治療の場合のシグナルセンサーポリヌクレオチド：癌細胞のトランスクリプトームの攪乱

実施例13で概説した動物モデルを用いて、動物を、M Y C阻害剤についてのシグナルセンサーポリヌクレオチド対負対照（M Y C阻害剤Dについて翻訳不可能なm R N A）対ビヒクルで処理する。また、K R a sモデルについて、既存の形質導入されたO m o M y cモデル追加を利用することができる。次に、動物の遺伝子発現、腫瘍状態、または癌表現型または遺伝子型に関連する特徴のいずれかを評価する。

30

【0981】

実施例17． 細胞保護シグナルセンサーポリヌクレオチド

癌治療薬（m R N Aおよび非m R N Aの両方）の設定の場合に、正常細胞に細胞保護の利点を付与するタンパク質（天然または非天然、細胞内または細胞外）を生じる複数のm R N Aの治療薬を送達する。

【0982】

実施例18． シグナルセンサーポリヌクレオチドにおけるセンサー配列として有用なm i R N A結合部位（B S）

40

特定の細胞（正常および／または癌）に、直接細胞毒性または細胞保護m R N A治療薬を指示するためのm R N A治療薬の3' U T Rに、m i R N Aの結合部位を使用する。

【0983】

強いアポトーシスシグナル（すなわち、A I F s h - A p o p t o s i s I n d u c i n g F a c t o r s h o r t i s o f o r m、構成的活性型（C . A .）カスパーゼ6（R e v - カスパーゼ6としても知られる）は、H S V 1 - t k - 単純ヘルペスウイルス1-チミジンキナーゼの要素である）を、癌関連ポリペプチドまたは「シグナル」としてコードされ、m i r - 1 2 2 a等の一連の3' U T R m i R結合部位と一緒にコードされ、比較的、シグナルセンサーポリヌクレオチドを、正常細胞より癌細胞内で、

50

はるかに安定にする。

【0984】

癌細胞株が特異的なmiRシグネチャを有する癌細胞株対正常hepatic細胞株を比較する実験をin vitroで行う。SNU449またはHEP3B細胞（ヒト由来のHCC細胞株）は、両方とも「検出不能のmiR-122a」を有することが示されているため、使用され、正常な肝細胞は非常に高いmiR-122aのレベルを有する。

【0985】

A. AIFshをコードしたポリペプチドの試験

まず、AIFshシグナルセンサーポリヌクレオチドに感受性のある（すなわちアポトーシスをもたらす）癌細胞を選択する。

10

【0986】

3つのmiR-122a結合部位をAIFshについてmRNA配列の3'UTRにコードし、試験のアームは、2つの細胞株（正常肝細胞、SNU449またはHEP3B）×5治療群（ビヒクルのみ、翻訳不可能なシグナルセンサーポリヌクレオチド、シグナルセンサーポリヌクレオチドAIFsh（3'UTRにmiRBSがない）、3'UTR [miR122aBSx3]－翻訳不可能なシグナルセンサーポリヌクレオチド、3'UTR [miR122aBSx3]－シグナルセンサーポリヌクレオチドAIFsh）を含む。

【0987】

期待される結果は、任意の3'UTR-miR122aBSの非存在下で、正常および癌（HEP3BまたはSNU449）細胞株の両方のシグナルセンサーポリヌクレオチドAIFshに対して、重要なアポトーシスであることである。しかし、3'UTR [miR122aBSx3]の－シグナルセンサーポリヌクレオチドAIFshに対して、正常な細胞株対癌細胞株の相対的なアポトーシスの有意差。

20

【0988】

効果の可逆性は、癌細胞株へのmiR122aの同時投与（例えば、miR122a活性を癌細胞株に後退させていくらか形質導入することによって）で示される。

【0989】

B. C. A. カスパーゼ6をコードしたポリペプチドの試験

まず、C. A. カスパーゼ6シグナルセンサーポリヌクレオチド（すなわち、それがアポトーシスをもたらす）に感受性がある癌細胞を選択する。

30

【0990】

3つのmiR-122a結合部位をC. A. カスパーゼ6についてmRNA配列の3'UTRにコードし、試験のアームは、2つの細胞株（正常肝細胞、SNU449またはHEP3B）×5治療群（ビヒクルのみ、翻訳不可能なシグナルセンサーポリヌクレオチド、シグナルセンサーポリヌクレオチドAIFsh（3'UTRのmiRBSでない）、3'UTR [miR122aBSx3]－翻訳不可能なシグナルセンサーポリヌクレオチド、3'UTR [miR122aBSx3]－シグナルセンサーポリヌクレオチドC. A. カスパーゼ6）を含む。

【0991】

期待される結果は、任意の3'UTR-miR122aBSの非存在下で、正常および癌（HEP3BまたはSNU449）細胞株の両方のシグナルセンサーポリヌクレオチドC. A. カスパーゼ6に対して、重要なアポトーシスであることである。しかし、3'UTR [miR122aBSx3]の－シグナルセンサーポリヌクレオチドC. A. カスパーゼ6に対して、正常な細胞株対癌細胞株の相対的なアポトーシスの有意差。

40

【0992】

C. HSV1-tkをコードしたポリペプチドの試験

まず、HSV1-tkシグナルセンサーポリヌクレオチドに感受性がある（すなわち、アポトーシスをもたらす）癌細胞を選択する。

【0993】

50

3つのmiR-122a結合部位をHSV1-tkについてmRNA配列の3'UTRにコードし、試験のアームは、2つの細胞株（正常肝細胞、SNU449またはHEP3B）×5治療群（ビヒクルのみ、翻訳不可能なシグナルセンサーポリヌクレオチド、シグナルセンサーポリヌクレオチドHSV1-tk（3'UTRのmiR BSでない）、3'UTR [miR122a BS x3] -翻訳不可能なシグナルセンサーポリヌクレオチド、3'UTR [miR122a BS x3] -シグナルセンサーポリヌクレオチドHSV1-tk）を含む。

【0994】

期待される結果は、任意の3'UTR-miR122a BSの非存在下で、正常および癌（HEP3BまたはSNU449）細胞株の両方のシグナルセンサーポリヌクレオチドHSV1-tkに対して、重要なアポトーシスであることである。しかし、3'UTR [miR122a BS x3] のシグナルセンサーポリヌクレオチドHSV1-tkに対して、正常な細胞株対癌細胞株の相対的なアポトーシスの有意差。

10

【0995】

効果の可逆性は、癌細胞株へのmiR122aの同時投与（例えば、miR122a活性を癌細胞株に後退させていくらか形質導入することによって）で示される。

【0996】

D. シグナルセンサーポリヌクレオチドのin vivo試験

in vivo動物実験を、本明細書に開示されたモデルまたは市販の同所性HCCモデルのいずれかを使用して、AIFsh、C. A. カズパーゼ6、HSV1-tkについて行う。

20

【0997】

実施例19. マイクロRNA結合部位を有する修飾された核酸の発現

ヒト胎児腎臓上皮細胞（HEK293A）および一次ヒト肝細胞（肝細胞）を、500 μlの細胞培養培地（In Vitro Growth medium、セルシス、シカゴ、イリノイ州）にウェル当たり200,000の密度で播種した。α-グロビン3'UTR（G-C S F α）（mRNA配列は配列番号6599に示される、配列には示されていない約160ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシチジンおよびプソイドウリジンで完全修飾された）α-グロビン3'UTRおよびmiR-122結合部位を有するG-C S F mRNA（G-C S FのmiR-122）（mRNA配列は配列番号6600に示される、配列には示されていない約160ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5メチルシチジンとシュードウリジンで完全修飾された）、または種が削除された（G-C S F種のない）4つのmiR-122結合部位でα-グロビン3'UTRを有するG-C S F mRNA（mRNA配列は配列番号6601に示される、配列には示されていない約160ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシチジンおよびプソイドウリジンで完全修飾された）を有するG-C S F mRNAを、24ウェルプレートにウェルあたり250 ngの濃度で試験した。G-C S Fの発現をELISAによって測定し、結果を表14に示す。

30

表14. miR-122結合部位

【表 0014】

	HEK293A	肝細胞
	タンパク質の発現 (ng/ml)	タンパク質の発現 (ng/ml)
G-CSF alpha	99.85	8.18
G-CSF miR-122	87.67	0
G-CSF種なし	200.2	8.05

10

【0998】

HEK293細胞はmiR-122を発現しないため、miR-122を含む配列からG-CSFタンパク質の下方制御がなかった。一方、ヒト肝細胞は、高レベルのmiR-122を発現し、G-CSF配列がmiR-122標的配列を含む場合に観察されるG-CSFタンパク質の劇的な下方制御があった。その結果、mRNAは栄養要求性mRNAとして機能した。

20

【0999】

実施例20. 細胞株におけるMYC阻害剤Dの試験

本明細書に記載のように肝臓癌および肺癌の細胞株を、生理食塩水中でMYC阻害剤D修飾mRNAを形質移入する、または本明細書または国際出願第PCT/US2012/69610号（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）に記載のように製剤化する。MYC阻害剤D修飾mRNAで選択性および／または治療効果を評価するために、正常な肝細胞もMYC阻害剤D修飾mRNAを形質移入する。

【1000】

実施例21. シグナルセンサーポリヌクレオチドの製剤化

シグナルセンサーポリヌクレオチドを、本明細書に記載され、当技術分野で周知であり、および／または国際出願第PCT/US2012/69610号（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）に記載のように、脂質ナノ粒子中に製剤化する。腫瘍送達のために、脂質ナノ粒子製剤を、*in vitro*または*in vivo*投与の前に、効率的に送達するために適合する。標的化送達、および／または毒性を低減するために、シグナルセンサーポリヌクレオチドは、少なくとも一つのmiR結合部位を含む。

30

【1001】

脂質ナノ粒子の製剤を、当技術分野で周知であり、または本明細書に記載の方法によって、肝臓癌および肺癌モデル（例えば、本明細書に記載のもの、およびマウスの皮下ヒト異種移植片、マウスの同所性ヒト異種移植片およびトランスジェニック／遺伝子操作されたマウスモデル）に（例えば、静脈内、筋肉内およびまたは鼻腔内）投与する。

40

【1002】

実施例22. 哺乳動物へのシグナルセンサーポリヌクレオチドの送達

シグナルセンサーポリヌクレオチドを肺および／または肝臓癌モデル（例えば、本明細書に記載のもの）を*in vivo*送達するために製剤化する。シグナルセンサーポリヌクレオチドを、本明細書に記載され、当技術分野で周知であり、および／または国際出願第PCT/US2012/69610号（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）に記載のように、脂質ナノ粒子中に製剤化する。

【1003】

肺および／または肝臓癌モデルを、タンパク質発現、アポトーシス、毒性、腫瘍容積による有効性、肝臓酵素レベルおよび腫瘍組織への効果について分析し、製剤化されたシグ

50

ナルセンサーポリヌクレオチドの肺および／または肝癌モデルへの投与の効果を評価する。シグナルセンサーポリヌクレオチドのタンパク質発現を評価するためにアッセイを使用する。アポトーシス、毒性、腫瘍体積による有効性、肝酵素レベルおよび腫瘍組織を、当技術分野で周知の一般的な方法を用いて評価する。

【1004】

実施例 23. 用量反応

98N12-5 (NPA-005) および DLin-KC2-DMA (NPA-003) のナノ粒子製剤を、様々な濃度で試験し、FL4 または mCherry の MFI を決定する (配列番号 6602 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 160 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5 メチルシチジンおよびプソイドウリジンで完全修飾) を、あらゆる用量範囲で決定する。試験した製剤を表 15 に概説する。98N12-5 のナノ粒子製剤の最適濃度を決定するために、製剤化された修飾 RNA (ウェルあたり 100 ng、10 ng、1.0 ng、0.1 ng および 0.01 ng) の様々な濃度を、HEK293 の 24 ウェルプレートで試験した。

【1005】

ヒト胎児腎臓上皮 (HEK293) (LGC standards GmbH、ウェーゼル、ドイツ) を、96 ウェルプレート (Greiner Bio-one GmbH、フリッケンハウゼン、ドイツ) に播種し、プレートをコラーゲンタイプ 1 でプレコーティングした。HEK293 を、100 μ l の細胞培養培地中にウェルあたり 30,000 細胞の密度で播種した。細胞培養培地は、DMEM、10% FCS、2 mM の L-グルタミンの添加、1 mM の Sodium pyruvate および 1 倍の非必須アミノ酸 (Biochrom AG、ベルリン、ドイツ) および 1.2 mg/ml の重炭酸ナトリウム (Sigma-Aldrich、ミュンヘン、ドイツ) であった。mCherry mRNA を含有する製剤を、細胞を播種した後、直接、4 つに添加してインキュベートした。

【1006】

96 ウェルのプロバインド U 底プレート (Beckton Dickinson GmbH、ハイデルベルク、ドイツ) に培養培地上清を移すことによって、細胞を収集した。細胞を 1/2 量のトリプシン/EDTA (Biochrom AG、ベルリン、ドイツ) でトリプシン処理し、それぞれの上清と共にプールし、1 容量の PBS/2% FCS (両方とも Biochrom AG、ベルリン、ドイツ)/0.5% ホルムアルデヒド (Merck、ダルムシュタット、ドイツ) を追加することによって固定した。次に、LSRII サイトメーター (Beckton Dickinson GmbH、ハイデルベルク、ドイツ) で、532 nm の励起レーザーおよび PE-テキサスレッド用の 610/20 フィルターで、試料をフローサイトメーター測定に供した。すべてのイベントの平均蛍光強度 (MFI) を分析し、各用量の FL4 MFI の結果を表 16 に示す。同様に、DLin-KC2-DMA のナノ粒子製剤の最適な濃度を決定するために、製剤化された修飾 RNA の濃度を变化させる試験を (ウェルあたり、250 ng、100 ng、10 ng、1.0 ng、0.1 ng および 0.01 ng) を HEK293 の 24 ウェルプレートで行い、各用量の FL4 MFI の結果を表 17 に示す。DLin-KC2-DMA のナノ粒子製剤を、HEK293 の 24 ウェルプレート中で、製剤化修飾された RNA の濃度を变化させて (ウェルあたり 250 ng、100 ng、および 30 ng)、各用量の FL4 MFI の結果を表 18 に示す。98N12-5 のための 1 ng/well の用量および DLin-KC2-DMA のための 10 ng/well の用量はバックグラウンドの FL4 MFI に近いことを見出した。

【1007】

濃度がバックグラウンドにどの程度近いかを決定するために、mCherry 発現の検出のために最適化されたフィルターセットと共にフローサイトメーターを使用して、バックグラウンドレベルと比較して感受性が増加した結果を得ることができた。25 ng/ウェル、0.25 ng/ウェル、0.025 ng/ウェル および 0.0025 ng/ウェルの用量を、98N12-5 (NPA-005) および DLin-KC2-DMA (NPA

－003) について分析し、mCherryのMFIを決定した。表19に示されるように、0.025 ng/ウェルの濃度とそれより低い濃度は、約386.125であるmCherryのバックグラウンドMFIレベルに類似している。

表15. 製剤

【表0015】

製剤#	NPA-003	NPA-005
脂質	DLin-KC2-DMA	98N12-5
脂質/RNA wt/wt	20	15
平均の大きさ	114 nm PDI: 0.08	106 nm PDI: 0.12

10

表16. HEK293、NPA-005、24ウェル、n = 4

【表0016】

製剤	FL4 MFI
未処理の対照	0.246
NPA-005 100 ng	2.2175
NPA-005 10 ng	0.651
NPA-005 1.0 ng	0.28425
NPA-005 0.1 ng	0.27675
NPA-005 0.01 ng	0.2865

20

表17. HEK293、NPA-003、24ウェル、n = 4

【表0017】

製剤	FL4 MFI
未処理の対照	0.3225
NPA-003 250 ng	2.9575
NPA-003 100 ng	1.255
NPA-003 10 ng	0.40025
NPA-003 1 ng	0.33025
NPA-003 0.1 ng	0.34625
NPA-003 0.01 ng	0.3475

30

表18. HEK293、NPA-003、24ウェル、n = 4

【表0018】

製剤	FL4 MFI
未処理の対照	0.27425
NPA-003 250 ng	5.6075
NPA-003 100 ng	3.7825
NPA-003 30 ng	1.5525

40

表19. 濃度およびMFI

【表 0019】

製剤	MFI mCherry	
	NPA-003	NPA-005
25 ng/well	11963.25	12256.75
0.25 ng/well	1349.75	2572.75
0.025 ng/well	459.50	534.75
0.0025 ng/well	310.75	471.75

【1008】

10

実施例 24. LNP 製剤

D L i n-DMA、D L i n-K-DMA、D L i n-KC2-DMA、98N12-5、C12-200およびD L i n-MC3-DMAの製剤を、HEK293のプレートでは60 ng/ウェルまたは62.5 ng/ウェルのプレートの濃度で、HepG2細胞のプレートでは62.5 ng/ウェルの濃度で24時間インキュベートし、mCherryのMFI（配列番号6602に示されるmRNA配列）、配列には示されていない約160ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5メチルシチジンおよびプソイドウリジンで完全に修飾された）を各製剤について決定した。

【1009】

20

ヒト胎児腎臓上皮（HEK293）および肝細胞癌上皮（HepG2細胞）細胞（LG C s t a n d a r d s G m b H、ウェーゼル、ドイツ）を、96ウェルプレート（G r e i n e r B i o-o n e G m b H、フリッケンハウゼン、ドイツ）に播種し、HEK293細胞のプレートをコラーゲンタイプ1でプレコーティングした。HEK293を30,000の密度で播種し、HepG2細胞を100 μlの細胞培養培地中に、ウェルあたり35,000細胞の密度で播種した。HEK293については、細胞培養培地はDMEM、10% FCSであり、2 mMのL-グルタミン、1 mMのSodium pyruvateおよび1倍の非必須アミノ酸（Biochrom AG、ベルリン、ドイツ）および1.2 mg/mlの重炭酸ナトリウム（Sigma-Aldrich、ミュンヘン、ドイツ）を加え、HepG2については、細胞培地はMEM（Gibco Life Technologies、ダルムシュタット、ドイツ）、10% FCSであり、2 mMのL-グルタミンを追加し、1 mMのSodium pyruvateおよび1倍の非必須アミノ酸（Biochrom AG、ベルリン、ドイツ）を加えた。mCherry mRNAを含有する製剤（配列番号6602に示されるmRNA配列、配列には示されていない約160ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1）、細胞を播種した後、直接4つに添加し、インキュベートした。in vitro転写（IVT）に使用されるT7プロモーター、5'非翻訳領域（UTR）および3'UTRを伴うmCherry cDNAは、配列番号6603に記載されている。mCherry mRNAを、各ウリジンサイトで、5 meCで修飾し、各シチジンおよびプソイドウリジン置換で修飾した。

30

【1010】

40

96ウェルのプロバインドU底プレート（Beckton Dickinson GmbH、ハイデルベルク、ドイツ）に培養培地上清を移すことによって、細胞を収集した。細胞を1/2量のトリプシン/EDTA（Biochrom AG、ベルリン、ドイツ）でトリプシン処理し、それぞれの上清と共にプールし、1用量のPBS/2% FCS（両方ともBiochrom AG、ベルリン、ドイツ）/0.5%ホルムアルデヒド（Merck、ダルムシュタット、ドイツ）を追加することによって固定した。次に、LSRIIサイトメーター（Beckton Dickinson GmbH、ハイデルベルク、ドイツ）で、532 nmの励起レーザーおよびPE-テキサスレッド用の610/20フィルターで、試料をフローサイトメーター測定に供した。すべてのイベントの平均蛍光強度（MFI）を測定した。

50

【1011】

試験を行った製剤を以下の表20に概説する。60 ng／ウェルについては表21に示し、62.5 ng／ウェルについては表22、23、24および25に示すように、NPA-003およびNPA-018の製剤は最も高いmCherry MFIを有し、NPA-008、NPA-010およびNPA-013の製剤は、バックグラウンド試料mCherry MFI値に最も類似している。

表20. 製剤

【表0020】

製剤 #	脂質	脂質/RNA wt/wt	平均の大きさ(nm)
NPA-001	DLin-KC2-DMA	10	155 nm PDI: 0.08
NPA-002	DLin-KC2-DMA	15	140 nm PDI: 0.11
NPA-002-2	DLin-KC2-DMA	15	105 nm PDI: 0.04
NPA-003	DLin-KC2-DMA	20	114 nm PDI: 0.08
NPA-003-2	DLin-KC2-DMA	20	95 nm PDI: 0.02
NPA-005	98N12-5	15	127 nm PDI: 0.12
NPA-006	98N12-5	20	126 nm PDI: 0.08
NPA-007	DLin-DMA	15	148 nm PDI: 0.09
NPA-008	DLin-K-DMA	15	121 nm PDI: 0.08
NPA-009	C12-200	15	138 nm PDI: 0.15
NPA-010	DLin-MC3-DMA	15	126 nm PDI: 0.09
NPA-012	DLin-DMA	20	86 nm PDI: 0.08
NPA-013	DLin-K-DMA	20	104 nm PDI: 0.03
NPA-014	C12-200	20	101 nm PDI: 0.06
NPA-015	DLin-MC3-DMA	20	109 nm PDI: 0.07

表21. HEK293、96ウェル、60 ngの修飾RNA／ウェル

【表 0 0 2 1】

製剤	MFI mCherry
未処理	871.81
NPA-001	6407.25
NPA-002	14995
NPA-003	29499.5
NPA-005	3762
NPA-006	2676
NPA-007	9905.5
NPA-008	1648.75
NPA-009	2348.25
NPA-010	4426.75
NPA-012	11466
NPA-013	2098.25
NPA-014	3194.25
NPA-015	14524

10

表 2 2 . H E K 2 9 3、6 2 . 5 n g / ウェル
【表 0 0 2 2】

製剤	MFI mCherry
未処理	871.81
NPA-001	6407.25
NPA-002	14995
NPA-003	29499.5
NPA-005	3762
NPA-006	2676
NPA-007	9905.5
NPA-008	1648.75
NPA-009	2348.25
NPA-010	4426.75
NPA-012	11466
NPA-013	2098.25
NPA-014	3194.25
NPA-015	14524

20

30

表 2 3 . H E K 2 9 3、6 2 . 5 n g / ウェル
【表 0 0 2 3】

製剤	MFI mCherry
未処理	295
NPA-007	3504
NPA-012	8286
NPA-017	6128
NPA-003-2	17528
NPA-018	34142
NPA-010	1095
NPA-015	5859
NPA-019	3229

40

表 2 4 . H e p G 2 細胞、6 2 . 5 n g / ウェル

【表 0 0 2 4】

製剤	MFI mCherry
未処理	649.94
NPA-001	6006.25
NPA-002	8705
NPA-002-2	15860.25
NPA-003	15059.25
NPA-003-2	28881
NPA-005	1676
NPA-006	1473
NPA-007	15678
NPA-008	2976.25
NPA-009	961.75
NPA-010	3301.75
NPA-012	18333.25
NPA-013	5853
NPA-014	2257
NPA-015	16225.75

10

表 2 5. H e p G 2 細胞、6 2 . 5 n g / ウェル
【表 0 0 2 5】

20

製剤	MFI mCherry
未処理対照	656
NPA-007	16798
NPA-012	21993
NPA-017	20377
NPA-003-2	35651
NPA-018	40154
NPA-010	2496
NPA-015	19741
NPA-019	16373

30

【1 0 1 2】

実施例 2 5. L N P の i n v i v o 試験

m C h e r r y mRNA (配列番号 6 6 0 4、配列には示されていない約 1 6 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシチジンとプソイドウリジンで完全修飾された)を、シリンジポンプ法を用いて脂質ナノ粒子 (L N P) として製剤化した。L N P を、最終の脂質モル比が 5 0 : 1 0 : 3 8 . 5 : 1 . 5 (D L i n - K C 2 - D M A : D S P C : コレステロール : P E G - c - D O M G) の 2 0 : 1 重量比の修飾 mRNA に対する総脂質で製剤化した。m C h e r r y 製剤を、表 2 6 に列挙し、粒子サイズ、ゼータ電位、およびカプセル化によって特徴づけた。

40

表 2 6. m C h e r r y 製剤

【表 0026】

製剤#	NPA-003-5
修飾mRNA	mCherry
平均の大きさ	105 nm PDI: 0.09
pH7.4のゼータ	1.8 mV
カプセル化 (RiboGr)	100%

10

【1013】

100 μ g の修正されたmRNA用量のLNP製剤を、マウス (n = 5) に静脈内投与した。マウスは、投与から24時間後に屠殺した。mCherry修飾mRNAの製剤を投与したマウスの肝臓および脾臓は、免疫組織化学ソーティング (IHC)、ウェスタンブロット、または蛍光活性化セル (FACS) により分析した。

【1014】

肝臓の組織学は、セクション全体に均一なmCherry発現を示し、未処理の動物は、mCherryを発現しなかった。また、ウェスタンブロットも使用して、処理動物のmCherry発現を確認し、未処理動物ではmCherryは検出されなかった。チューブリンを対照マーカーとして使用し、処理された、未処理マウスの両方で検出し、肝細胞の正常なタンパク質の発現は影響を受けなかったことを示した。

20

【1015】

mCherryおよび未処理マウスの脾臓でFACSおよびIHCも行った。FACS分析によって、すべての白血球細胞集団はmCherryの発現について陰性であった。IHCによって、また、mCherry処理マウスと未処理マウスとの間で、脾臓に観察可能な差はなかった。

【1016】

実施例 26. 2 補因子間の結合親和性の滴定

2つの補因子間の結合親和性を滴定するために、実験を実施した。本明細書に使用するとき、用語「滴定」は、目的の特性を評価するために、1つ以上の因子を系統的に導入する方法 (例えば、増加しているレベル、または1つ以上の因子を系統的に改変する)、溶液、シナリオまたはその系列を意味する。本実施形態では、目的の特性は、2つの補因子間の結合親和性である。一実施形態では、2つの補因子をコードする構築物を得て、および/または合成し、一連の変異体構築物を調製および/または合成する。変異体構築物は、補因子変異体をコードし、補因子変異体として、切り詰め変異体 (N末端またはC末端ドメインのいずれかから1つまたは複数のアミノ酸を欠いている変異タンパク質)、局地的に削除された変異体 (タンパク質の内部領域 (1つ以上のアミノ酸を含む) が不在である)、単一のアミノ酸置換を有する変異体 (正常に発現したアミノ酸が代替アミノ酸で置換される)、内部またはいずれかの末端に加えられる1つ以上の追加のアミノ酸を有する変異体が挙げられ、タンパク質の局所的置換を有する変異体 (一つ以上のアミノ酸を含む) は、代替領域 (一つ以上のアミノ酸を含む) および/またはこれらの任意の組み合わせで置換される。変異体構築物は無作為に変異し、または観察されている2つの補助因子間の結合に必要な分子間相互作用の既存の知識に基づいて、標的変異に供される。

30

40

【1017】

いくつかの実施形態では、一連の変異タンパク質は、ポリペプチド鎖に沿って漸進的なパターンに従うように設計されている。このような系列によって、補因子間の相互作用の特定の側面または特徴のより良い理解が可能になる。変異体系列として、例えば、それぞれ単一のアミノ酸置換を有する変異体の一連の産生が挙げられ、各変異体は変異したポリペプチド配列に沿って、異なるアミノ酸を有する (例えば、アラニンは置換され、それによって各位置のアミノ酸側鎖の影響を排除する)。別の例では、一連の変異体は、その系

50

列の変異体がサイズの大きい切断を含むように設計される。別の例では、同様の方法で翻訳後修飾され得るアミノ酸（例えば、リン酸化、アセチル化、ユビキチン化、グリコシル化等）は、一連の変異体のポリペプチド配列に沿って変異させることができる。

【1018】

変異体補因子を用いた滴定実験について、2つの補因子間のベースライン親和性は、結合に好ましい条件下で両方の補因子を結合することによって確立され、補因子間の結合親和性がアッセイされる。結合親和性を、当該分野で周知の種々の方法のいずれかを用いて評価することができる。当該方法として、限定されないが、ウェスタンブロット分析、免疫沈降法、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、光退色後（FRAP）の蛍光回復、蛍光偏光技術および／または表面プラズモン共鳴に（SPR）に基づく技術が挙げられる。滴定のために、一つの方法によれば、一方または両方の補因子の変異体系列を、2つの突然変異していない補因子と組み合わせる（野生型と変異タンパク質間の競合結合を可能にするために）。異なる変異体の濃度が増加している存在下で、2つの補因子間の親和性の変化を評価し、結合について競合している変異体の系列に存在する特定の突然変異に対して、比較および／またはプロットする。あるいは、系列内の変異体補因子は、個々に、対応する非変異結合パートナーと結合し、結合親和性について評価する。野生型の補因子（変異体補因子に相当）の濃度の増加が導入され、変異体補因子と対応する非変異結合パートナーとの間の結合の変化を評価する。得られた結合曲線と試験された他の変異体の結合曲線との間で比較を行う。

【1019】

いくつかの実施形態では、2つの補因子間の結合親和性の滴定は、増加する濃度の第三因子の存在下または非存在下で評価する。そのような第三因子は、2つの補助因子間の結合の阻害剤または活性剤とすることができる。一連の変異体は、上記のように、第三因子のために生成されてもよく、当該系列を滴定実験に使用して、2つの補因子間の結合への突然変異の影響を評価することができる。

【1020】

滴定実験から得られた情報は、補因子間の相互作用を調節する因子をコードするように、修飾mRNA分子を設計するために使用することができる。

【1021】

いくつかの実施形態では、滴定実験を行い、HIF1サブユニット（HIF1- α 、HIF2- α およびARNT）、および／または変異HIF1サブユニットおよび／またはHIF1と相互作用する他のタンパク質間の結合親和性を評価する。滴定実験は、HIF1- α 、HIF2- α 、ARNTおよび／または第三相互作用因子のうちの1つ以上についての構築物を使用して生成された変異体系列を使用してもよい。いくつかの実施形態では、変異体系列はHIF1- α について生成される。HIF1- α およびHIF2- α を、細胞内の酸素の正常なレベルの下でHIFヒドロキシラーゼ酵素によってヒドロキシル化し、分解を促進しおよび／または転写活性を遮断する。ヒドロキシル化は酸素レベルの低下に伴って減少し、HIF1- α および／またはHIF2- α がそれらの補因子と結合することを可能にし、ARNTがHIF応答要素（HRE）を含む遺伝子の発現を増加させる（Keith, B. ら、HIF1 α and HIF2 α : sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression. Nat Rev Cancer. 2011 Dec 15; 12(12): 9-22）。一実施形態では、HIF1- α の変異体系列が生成され、この系列内の変異が、ポリペプチド鎖に沿って、1つ以上のヒドロキシル化部位を進行性に排除し（限定されないが、プロリン402、プロリン564および／またはアスパラギン803を含む）、それによってHIF1- α の変異体版の安定性および／または転写活性を調節する。別の実施形態では、変異体系列を生成するために、代替の補因子であるHIF2- α を使用する。当該変異体系列は、ポリペプチド鎖（限定されないが、プロリン405、プロリン531および／またはアスパラギン847を含む）に沿って1つ以上のヒドロキシル化部位を進行性に排除し、それによってHIF2- α の変異体版の安定性および／または転写

活性を調節する。別の実施形態では、A R N Tとの相互作用に必要な領域を進行性に変異させるH I F 1- α および／またはH I F 2- α 変異体系列を生成し、それによってA R N Tと結合し、H I F依存性遺伝子発現を調節するために改変された能力を有する変異体を作成する。別の実施形態では、他のH I Fサブユニットとの相互作用に必要な領域を進行性に変異させるA R N T変異体系列を生成し、それによってH I F サブユニットと結合し、H I F依存性遺伝子発現を調節するために改変された能力を有する変異体を作成する。

【1022】

いくつかの実施形態では、フォン・ヒッペル・ランダウ腫瘍抑制タンパク質（p V H L）のために変異体系列を生成する。このタンパク質は、ヒドロキシル化H I F 1- α およびH I F 2- α に結合し、そのユビキチン化および分解を促進する。一実施形態では、H I F 1サブユニットとの相互作用に必要な領域を進行性に変異させる変異体系列を生成し、それによってH I F 1サブユニットと結合し、H I F依存性遺伝子発現を調節するために改変された能力を有する変異体を作成する。

10

【1023】

滴定実験で使用するためのタンパク質標的のための転写配列およびポリペプチド配列を（それぞれ）表27と表28に示す。目的のポリペプチドをコードする遺伝子の名前と記述は、E N S E M B LトランスクリプトID（E N S T）および転写配列（表27）またはE N S E M B Lタンパク質ID（E N S P）およびペプチド配列（表28）を伴う。本発明のいくつかの実施形態では、H I Fサブユニットおよび／またはH I F依存性遺伝子発現との間の親和性を調節する因子をコードするように、修飾m R N Aを設計することができる。このような修飾されたm R N Aは、滴定実験から得られた知識を用いて設計することができる。

20

表27．滴定実験のための追加の標的の転写産物配列

【表 0 0 2 7 - 1】

標的	標的の記述	ENST ID	転写配列	SEQ ID NO
HIF2-alpha	低酸素誘導因子2, alpha サブユニット; 内皮PAS領域タンパク質1	263734	GCTTTACACTCGCGAGCGGACCGCCACACGG GTCCGGTGCCCGCTGCGCTTCCGCCCCAGCG CTCCTGAGGCGGCCGTACAATCCTCGGCAGT GTCTGAGACTGTATGGTCAGCTCAGCCCGG CCTCCGACTCCTTCGACTCCCAGCATTCTGA GCCACTTTTTTTTTCTTTGAAAACTCAGAAA AGTGACTCCTTTTCCAGGAAAAAGGAACTT GGGTTCCCTTCTCTCCGTCTCTTTTCGGGTC TGACAGCCTCCACCCACTCCTTCCCCGGACC CCGCTCCGCGCGCAGGTTCTCCAGTCAC CTTTCTCACCCCCGCCCCGCACCTAGCCC GCCGCGCGCCACCTTCCACCTGACTGCGCGG GGCGCTCGGGACCTGCGCGCACCTCGGACCT TCACCACCCGCCCCGGCCGCGGGAGCGGA CGAGGGCCACAGCCCCCACCAGCCAGGGA GCCAGGTGCTCGGCGTCTGAACGTCTCAA GGGCCACAGCGACAATGACAGCTGACAAGGA GAAGAAAAAGAGTAGCTCGGAGAGGAGGA GGAGAAAGTCCCGGGATGCTGCGCGGTGCCG GCGGAGCAAGGAGACGAGGTGTTCTATGAG CTGGCCCATGAGCTGCCTCTGCCCCACAGTG TGAGCTCCCATCTGGACAAGGCCTCCATCAT CGGACTGGCAATCAGCTTCTGCGAACACAC AAGCTCCTCTCCTCAGTTTGCTCTGAAAACG AGTCCGAAGCCGAAGCTGACCAGCAGATGGA CAACTTGTAACCTGAAAGCCTTGAGGGTTTC ATTGCCGTGGTGACCCAAGATGGCGACATGA TCTTTCTGTCAGAAAACATCAGCAAGTTCATG GGACTTACACAGGTGGAGCTAACAGGACATA GTATCTTTGACTTCACTCATCCCTGCGACCAT GAGGAGATTCTGTGAGAACCTGAGTCTAAAA ATGGCTCTGGTTTGGGAAAAAAGCAAGA CATGTCCACAGAGCGGGACTTCTTCATGAGG ATGAAAGTGCACGGTCACCAACAGAGGCCGTA CTGTCAACCTCAAGTCAGCCACCTGGAAGGT CTTGCACTGCACGGGCCAGGTGAAAGTCTAC AACAACTGCCCTCCTCACAATAGTCTGTGTG GCTACAAGGAGCCCCTGCTGTCCTGCCTCAT CATCATGTGTGAACCAATCCAGCACCCATCCC ACATGGACATCCCCCTGGATAGCAAGACCTT CCTGAGCCGCCACAGCATGGACATGAAGTTC	6605

10

20

30

【表 0 0 2 7 - 2】

		ACCTACTGTGATGACAGAATCACAGAACTGAT TGGTTACCACCCTGAGGAGCTGCTTGGCCGC TCAGCCTATGAATTCTACCATGCGCTAGACTC CGAGAACATGACCAAGAGTCACCAGAACTTG TGCACCAAGGGTCAGGTAGTAAGTGCCAGT ACCGGATGCTCGCAAAGCATGGGGGCTACGT CTGGCTGGAGACCCAGGGACGGTCATCTAC AACCCTCGCAACCTGCAGCCCCAGTGCATCA TGTGTGTCAACTACGTCTCTGAGTGAGATTGA GAAGAATGACGTGGTGTCTCCATGGACCAG ACTGAATCCCTGTTCAAGCCCCACCTGATGG CCATGAACAGCATCTTTGATAGCAGTGGCAA GGGGGCTGTGTCTGAGAAGAGTAACTTCTTA TTCACCAAGCTAAAGGAGGAGCCCCGAGGAGC TGGCCCAGCTGGCTCCCACCCAGGAGACGC CATCATCTCTCTGGATTTCGGGAATCAGAACT TCGAGGAGTCTCTCAGCCTATGGCAAGGCCAT CCTGCCCCGAGCCAGCCATGGGCCACGGAG TTGAGGAGCCACAGCAGCCAGAGCGAGGGTG GGAGCCTGCCTGCCTTACCGTGCCCCAGGC AGCTGCCCCGGGCAGCACCACCCCACTGCC ACCAGCAGCAGCAGCAGCTGCTCCACGCCCA ATAGCCCTGAAGACTATTACACATCTTTGGAT AACGACCTGAAGATTGAAGTGATTGAGAAGC TCTTCGCCATGGACACAGAGGCCAAGGACCA ATGCAGTACCCAGACGGATTTCATGAGCTG GACTTGAGACACTGGCACCCCTATATCCCCAT GGACGGGGAAGACTTCCAGCTAAGCCCCATC TGCCCCGAGGAGCGGCTCTTGCGGAGAAACC CACAGTCCACCCCCAGCACTGCTTCAGTGC CATGACAAACATCTTCCAGCCACTGGCCCCT GTAGCCCCGCACAGTCCCTTCCTCCTGGACA AGTTTCAGCAGCAGCTGGAGAGCAAGAAGAC AGAGCCCGAGCACCAGCCCATGTCTCCATC TTCTTTGATGCCGGAAGCAAAGCATCCCTGC CACCCTGCTGTGGCCAGGCCAGCACCCTCT CTCTTCCATGGGGGCGAGATCCAATACCCAG TGGCCCCAGATCCACCATTAATTTTGGGCC CACAAAGTGGGCCGTCGGGGATCAGCGCACA GAGTTCTTGGGAGCAGCGCCGTTGGGGCCCC CTGTCTCTCCACCCCATGTCTCCACCTTCAAG ACAAGGTCTGCAAAGGGTTTGGGGCTCGAG GCCAGACGTGCTGAGTCCGGCCATGGTAGC CCTCTCCAACAAGCTGAAGCTGAAGCGACAG
	10	
	20	
	30	

【表 0 0 2 7 - 3】

[illegible]

【表 0 0 2 7 - 4】

			GGCCTCCCTCTGTGGGCTTTTGGCATCTGTG ATATGCCATAGGTGTGACAATCCGAGCAGTG GAGTCATTGAGCGGGAGCACTGCGCGCTATC CCCTCACATTCTCTATGTAATGTATGTATGT ATTATTATTATTGCTGCCAAGAGGGTCTGATG GCACGTTGTGGGGTGGGGGGTGGGGCGGG GAAGTGCTCTAACTTTTCTTAAGGTTTGTG CTAGCCCTTCAAGTGCACTGAGCTATGTGACT CGGATGGTCTTTCACACGGCACATTTGGACA TTTCCAGAACTACCATGAGATGGTTTAGACGG GAATTCATGCAAATGAGGGGTCAAAAATGGT ATAGTGACCCCGTCCACGTCCTCCAAGCTCA CGACCTTGGAGCCCGTGGAGCTGGACTGAG GAGGAGGCTGCACAGCGGGAGAGCAGCTGG TCCAGACCAAGCCCTGCAGCCCCACTCAGCC GGCAGCCAGATGGCCCGCAAGGCCTCCAGG GATGGCCCTAGCCACAGGCCCTGGCTGAGG TCTCTGGGTGCGTCAGTGACATGTAGGTAGG AAGCACTGAAAATAGTGTCCCAGAGCACTT TGCAACTCCCTGGGTAAGAGGGACGACACCT CTGGTTTTCAATACCAATTACATGGAACCTT TCTGTAATGGGTACAATGAAGAAGTTTCTAAA AACACACACAAAGCACATTGGGCCAACTATTT AGTAAGCCCGGATAGACTTATTGCCAAAAACA AAAAATAGCTTTCAAAAGAAATTTAAGTTCTA TGAGAAATTCCTTAGTCATGGTGTGCGTAAA TCATATTTTAGCTGCACGGCATTACCCACAC AGGGTGGCAGAACTTGAAGGGTACTGACGT GTAAATGCTGGTATTTGATTTCTGTGTGTGT TGCCCTGGCATTAAGGGCATTTTACCCTTGCA GTTTTACTAAAACACTGAAAAATATTCCAAGC TTCATATTAACCCTACCTGTCAACGTAACGAT TTCATGAACGTTATTATATTGTGAATTCTTAC TGACAACATTATAACTGTATGGGAGCTTAACT TTATAAGGAAATGTATTTGACACTGGTATCT TATTAAGTATTCTGATCCTA	
pVHL	フォン・ヒ ッペル・ラ ンダウ腫瘍 抑制剤	256474	TGAGTGTTTATGTTTGTAGTTTAAATGCTCT GAAGTAAATATCTGATTTTCCAATTTCCACCA GAGTGCTCTGCACATAGTAGGTCTAATTATTT TTCCCTCTTTACTAATCACCCATGCCTTGTA GAATTCAGTTAGTTGACTTTTGTACTTTATA AGCGTGATGATTGGGTGTTCCCGTGTGAGAT CGGCCACCCCTCGAACCTTGTACGACCTCGG CACATTGCGCGTCTGACATGAAGAAAAAAA	6606

10

20

30

【表 0 0 2 7 - 5】

	AATTCAAGTTAGTCCACCAGGCACAGTGGCTA AGGCCTGTAATCCCTGCACTTTGAGAGGCCA AGGCAGGAGGATCACTTGAACCCAGGAGTTC GAGACCAGCCTAGGCAACATAGCGAGACTCC GTTTCAAACAACAAATAAAAAATAATTAGTCGG GCATGGTGGTGCGCGCCTACAGTACCAACTA CTCGGGAGGCTGAGGCGAGACGATCGCTTGA GCCAGGGAGGTCAAGGCTGCAGTGAGCCAA GCTCGCGCCACTGCACTCCAGCCCGGGCGAC AGAGTGAGACCCTGTCTCAAAAAAAAAAAAA ACACCAAACCTTAGAGGGGGCGAAAAAAATT TTATAGTGAAATACAGTAACGAGTTGGCCTA GCCTCGCCTCCGTTACAACGGCCTACGGTGC TGGAGGATCCTTCTGCGCACGCGCACAGCCT CCGGCCGGCTATTTCGCGGAGCGCGTTCCAT CCTCTACCGAGCGCGCGCGAAGACTACGGAG GTGCACTCGGGAGCGCGCACGCACTCCGCC CCGCGTCCGACCCGCGGATCCCGCGGCGTCC GGCCCGGGTGGTCTGGATCGCGGAGGGAAT GCCCCGGAGGGCGGAGAACTGGGACGAGGC CGAGGTAGGCGCGGAGGAGGCAGGCGTCGA AGACTACGGCCCTGAAGAAGACGGCGGGGA GGAGTCGGGCGCCGAGGAGTCCGGCCCCGA AGACTCCGGCCCGGAGGAACTGGGCGCCGA GGAGGAGATGGAGGCCGGCGGCCGCGGCC CGTGCTGCGCTCGGTGAACTCGCGCGAGCCC TCCAGGTCACTTCTGCAATCGCAGTCCGC GCGTCGTGCTGCCCGTATGGCTCAACTTCGA CGGCGAGCCGCAGCCCTACCCAACGCTGCCG CCTGGCACGGCCCGCCCATCCACAGCTACC GAGGTCACCTTTGGCTCTTCAGAGATGCAGG GACACACGATGGGCTTCTGGTTAACCAAAC GAATTATTTGTGCCATCTCTCAATGTTACGG ACAGCCTATTTTTGCCAATATCACACTGCCAG TGATACTCTGAAAGAGCGATGCCTCCAGGTT GTCCGGAGCCTAGTCAAGCCTGAGAATTACA GGAGACTGGACATCGTCAGGTCGCTCTACGA AGATCTGGAAGACCAACCAATGTGCAGAAA GACCTGGAGCGGCTGACACAGGAGCGCATTG CACATCAACGGATGGGAGATTGAAATTCT GTTGAAACTTACACTGTTTCATCTCAGCTTT GATGGTACTGATGAGTCTTGATCTAGATACAG GACTGGTTCCTTCCTTAGTTTCAAAGTGTCTC ATTCTCAGAGTAAAATAGGCACCATTTGCTTAA	10 20 30
--	--	-------------------------------

【表 0 0 2 7 - 6】

		AAGAAAGTTAACTGACTTCACTAGGCCATTGTG ATGTTTAGGGGCAAACATCACAAAATGTAATT TAATGCCTGCCCATTAGAGAAATTTATCAG GAGAAAGGTGGTGGCATTTTTGTTCCTAGTA AGTCAGGACAGCTTGATGTAAGGAGGTTTG TATAAGTAATTCAGTGGGAATTGCAGCATATC GTTTAATTTTAAAGAGGCATTGGCATCTGCTT TTAATGGATGTATAATACATCCATTCTACATCC GTAGCGGTTGGTGACTTGTCTGCCTCCTGCT TTGGGAAGACTGAGGCATCCGTGAGGCAGGG ACAAGTCTTTCTCCTCTTTGAGACCCCACTGC CTGCACATCATGAGCCTTCAGTCAGGGTTTG TCAGAGGAACAAACCAGGGGACACTTTGTTA GAAAGTGCTTAGAGGTTCTGCCTCTATTTTGT TTGGGGGGTGGGAGAGGGGACCTTAAATGT GTACAGTGAACAAATGTCTTAAAGGGAATCAT TTTTGTAGGAAGCATTTTTTTATAATTTTCTAAG TCGTGCACTTTCTCGGTCCACTCTTGTTGAAG TGCTGTTTTATTACTGTTCTAAACTAGGATT GACATTCTACAGTTGTGATAATAGCATTTTTG TAACTTGCCATCCGCACAGAAAATACGAGAA AATCTGCATGTTTGATTATAGTATTAATGGAC AAATAAGTTTTTGCTAAATGTGAGTATTTCTG TTCCTTTTGTAAATATGTGACATTCCTGATT GATTTGGGTTTTTTTGTGTTGTTGTTTTGTT TTGTTTTGTTTTTTGAGATGGAGTCTCACTC TTGTACCCAGGCTGGAGTGCAGTGGCGCCA TCTCGGCTCACTGCAACCTCTGCCTCCTGGG TTCACGTAATCCTCCTGAGTAGCTGGGATTAC AGGCGCCTGCCACCACGCTGGCCAATTTTGT TACTTTTAGTAGAGACAGTGTTTCGTGATGTT GGCCAGGCTGGTTTCAAACCTCCTGACCTCAG GTGATCCGCCACCTCAGCCTCCCAAATGG TGGGATTACAGGTGTGTGGGCCACCGTGCCT GGGTGATTGAGCATTTTTATCAGGCAGGACC AGGTGGCACTTCCACCTCCAGCCTCTGGTCC TACCAATGGATTTCATGGAGTAGCCTGGACTGT TTCATAGTTTTTCTAAATGTACAAATCTTATAG GCTAGACTTAGATTTCATTAACCTCAAATTC AAT GCTTCTATCAGACTCAGTTTTTTGTAAC TAAT AGATTTTTTTTTCCACTTTTGTCTACTCCTTC CCTAATAGCTTTTTAAAAAATCTCCCCAGTA GAGAAACATTTGGAAAAGACAGAAAAC TAAA AAGGAAAGAAAAAGATCCCTATTAGATACACT	10 20 30
--	--	--	-------------------------------

【表 0 0 2 7 - 7】

			TCTTAAATACAATCACATTAACATTTTGAGCTA TTTCCTTCCAGCCTTTTATAGGCAGATTTTGG TTGGTTTTTACATAGTTGAGATTGTACTGTTT ATACAGTTTTTATACCCTTTTTCATTTAACTTTA TAACTTAAATATTGCTCTATGTTAGTATAAGCT TTTCACAAACATTAGTATAGTCTCCCTTTTATA ATTAATGTTTGTGGGTATTTCTTGGCATGCAT CTTTAATTCCTTATCCTAGCCTTTGGGCACAA TTCTGTGCTCAAAAATGAGAGTGACGGCTG GCATGGTGGCTCCCGCCTGTAATCCAGTAC TTTGGAAAGCCAAGGTAAGAGGATTGCTTGA GCCCAGAACTTCAAGATGAGCCTGGGCTCAT AGTGAGAACCCATCTATACAAAAATTTTAA AAATTAGCATGGCGGCACACATCTGTAATCCT AGCTACTTGGCAGGCTGAGGTGAGAAGATCA TTGGAGTTTAGGAATTGGAGGCTGCACTGAG CCATGAGTATGCCACTGCACTCCAGCCTGGG GGACAGAGCAAGACCCTGCCTCAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAATCAGGCCGGGCATGCTGG CTCACGCCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGG TCGAGGTGGGCAGATCACCTGAGGTCAGGAG TTCGAGACCAGCCTGGCCAACATGGTAAAC CCCATTTCTACTAAAAATACAAGAAT	
pVHL	フォン・ヒ ッペル・ラ ンダウ腫瘍 抑制剤	345392	CCCGCGTCCGACCCGCGGATCCCGCGGCGTC CGGCCCCGGTGGTCTGGATCGCGGAGGGAAT GCCCCGAGGGCGGAGAACTGGGACGAGGC CGAGGTAGGCGCGGAGGAGGCAGGCGTCGA AGAGTACGGCCCTGAAGAAGACGGCGGGGA GGAGTCGGGCGCCGAGGAGTCCGGCCCGGA AGAGTCCGGCCCGGAGGAACCTGGGCGCCGA GGAGGAGATGGAGGCCGGCGGCCGCGGCC CGTGCTGCGCTCGGTGAACTCGCGCGAGCCC TCCCAGGTCATCTTCTGCAATCGCAGTCCGC GCGTCGTGCTGCCGTATGGCTCAACTTCGA CGGCGAGCCGAGCCCTACCCAACGCTGCCG CCTGGCACGGGCCGCCGATCCACAGCTACC GAGTGATACTCTGAAAGAGCGATGCCTCCA GGTTGTCCGGAGCCTAGTCAAGCCTGAGAAT TACAGGAGACTGGACATCGTCAGGTCGCTCT ACGAAGATCTGGAAGACCACCAAAATGTGCA GAAAGACCTGGAGCGGCTGACACAGGAGCG CATTGCACATCAACGATGGGAGATTGAAGA TTTCTGTTGAACTTACACTGTTTCATCTCAG CTTTTGATGGTACTGATGAGTCTTGATCTAGA	6607

10

20

30

30

	TACAGGAGCTGGTTCCTTCTTAGTTTCAAAGT GTCTCATTCTCAGAGTAAAATAGGCACCATTG CTTAAAGGAAAGTTAACTGACTTCACTAGGCA TTGTGATGTTTAGGGGCAAAACATCACAAAATG TAATTTAATGCCTGCCATTAGAGAAGTATTT ATCAGGAGAAGGTGGTGGCATTTTTGCTTCC TAGTAAGTCAGGACAGCTTGTATGTAAGGAG GTTTGTATAAGTAATTGAGTGGGAATTGCAGC ATATCGTTTAATTTTAAAGAGGCATTGGCCTC TGCTTTTAATGGATGTATAATACATCCATTCTA CATCCGTAGCCGTTGGTGACTTGTCTGCCTC CTGCTTTGGGAAGACTGAGGCATCCGTGAGG CAGGGACAAGTCTTTCTCCTCTTTGAGACCC CAGTGCCCTGCACATCATGAGCCTTCAGTCAG GGTTTGTACAGGAAACAAACGAGGGGACACT TTGTTAAGAACTGCTTAGAGGTTCTGCCTCTA TTTTTGTGGGGGTGGGAGAGGGGACCTTA AAATGTGTACAGTGAACAAATGTCTTAAAGG GAATCATTTTTGTAGGAAGCATTTTTATAATT TTCTAAGTCGTGCACTTTCTCGGTCCACTCTT GTTGAAGTGCTGTTTTATTACTGTTTCTAAAC TAGGATTGACATTTACAGTTGTGATAATAGC ATTTTTGTAACCTGCCATCCGCACAGAAAATA CGAGAAAATCTGCATGTTTGATTATAGTATTA ATGGACAAAATAAGTTTTTGTCTAAATGTGAGTA TTTCTGTTCTCTTTTGTAAATATGTGACATTCC TGATTGTTTGGGTTTTTTTGTGTTGTTGTT TTGTTTTGTTTTGTTTTTTGAGATGGAGTCT CACTCTTGTACCCAGGCTGGAGTGCAGTGG CGCCATCTCGGCTCACTGCAACCTCTGCCTC CTGGGTTCACGTAATCCTCCTGAGTAGCTGG GATTACAGGCGCTGCCACCACGCTGGCCAA TTTTTTGACTTTTAGTAGAGACAGTGTTCGT CATGTTGGCCAGGCTGGTTTCAAACCTCCTGA CCTCAGGTGATCCGCCCACCTCAGCCTCCCA AAATGGTGGGATTACAGGTGTGTGGGCCACC GTGCTCGGCTGATTGAGCATTTTTTATCAGGC AGGACCAAGTGGCACTTCCACCTCCAGCCTC TGGTCTACCAATGGATTGAGGAGTAGCCTG GACTGTTTCATAGTTTTCTAAATGTACAAATT CTTATAGGCTAGACTTAGATTCACTAACTCAA ATTCATGCTTCTATCAGACTCAGTTTTTTGT AACAATAGATTTTTTTTTCCACTTTTGTCTA CTCCTTCCCTAATAGCTTTTTAAAAAATCTC
--	---

【表 0 0 2 7 - 9】

			CCCAGTAGAGAAACATTTGAAAAAGACAGAA AACTAAAAAGGAAGAAAAAGATCCCTATTAG ATACACTTCTTAAATACAATCACATTAACATTT TGAGCTATTTCCTTCCAGCCTTTTATAGGCAG ATTTTGTTGGTTTGTACATAGTTGAGATTGT ACTGTTCATACAGTTTATACCCCTTTTCATTT AACTTTATAACTTAAATATTGCTCTATGTTAGT ATAAGCTTTTCACAAACATTAGTATAGTCTCC CTTTATAATTAATGTTTGTGGGTATTTCTTGG CATGCATCTTAAATTCCTTATCCTAGCCTTTG GGCACAATTCTGTGCTCAAAAATGAGAGTG ACGGCTGGCATGGTGGCTCCCGCCTGTAATC CCAGTACTTTGAAAGCCAAGGTAAGAGGAT TGCTTGAGCCCAAGACTCAAGATGAGCCTG GGCTCATAGTGAGAAGCCATCTATACAAAAA TTTTAAAAATTAGCATGGCGGCACACATCTG TAATCCTAGCTACTTGGCAGGCTGAGGTGAG AAGATCATTGGAGTTTACGAATTGAGGCTG CAGTGAGCCATGAGTATGCCACTGCACTCCA GCCTGGGGACAGAGCAAGACCCTGCCTCAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA	
pVHL	フォン・ヒッペル・ランドウ腫瘍抑制剤	450183	GGATCCCGCGGCGTCCGGCCCGGCTGGTCTG GATCGCGGAGGGAATGCCCCGAGGGCGGA GAACTGGGACGAGGCCGAGGTAGCGCGGA GGAGGCAGGCGTCAAGAGTACGGCCCTGA AGAAGACAGCTACCGAGGTCACCTTTGGCTC TTCAGAGATGCAGGGACACAGATGGGCTTC TGGTTAACCAAACTGAATTATTTGTGCCATCT CTCAATGTTGACGGACAGCCTATTTTGCCAA TATCACACTGCCAGTGTATACTCTGAAAGAGC GATGCCTCCAGGTTGTCCGAGCCTAGTCAA GCCTGAGAATTACAGGAGACTGGACATCGTC AGGTGCTCTACGAAGATCTGGAAGACCACC CAAATGTGCAGAAAGACCTGAGCGGCTGAC ACAGGAGCGCATTGCACATCAACGGATGGGA GATTGAAGATTTCTGTTGAAACTTACACTGTT TCATCTCAGCTTTTGATGGTACTGATGAGTCT TGATCTAGATACAGGACTGGTTCCTTCCTTAG TTTCAAAGTGTCTCATTCTCAGAGTAAATAG GCACCATTGCTTAAAGAAAAGTTAACTGACTT CACTAGGCATTGTGATGTTTAGGGGCAAACAT CAAAAATGTAATTTAATGCCTGCCATTAGA GAAGTATTTATCAGGAGAAGGTGGTGGCATT TTTGCTTCCTAGTAAGTCAGGACAGCTTGTAT	6608

10

20

30

【表 0 0 2 7 - 1 0】

			GTAAGGAGGTTTGTATAACTAATTCAGTGGGA ATTGCAGCATATCGTTTAATTTAAGAAAGCA TTGGCATCTGCTTTTAATGGATGTATAATACAT CCATTCTACATCCGTAGCGGTTGGTGACTTGT CTGCCTCCTGCTTTGGGAAGACTGAGGCATC CGTGAGGCAGGGACAAGTCTTTCTCCTCTTT GAGACCCAGTGCCTGCACATCATGAGCCTT CAGTCAGGTTTGTGAGAGGAACAAACCAGG GGACACTTTGTAGAAAGTGCTTAGAGGTTT TGCCTCTATTTTGTGGGGGTGGGAGAGG GGACCTTAAATGTGTACAGTGAACAAATGTC TTAAAGGAATCATTTTGTAGGAAGCATTTT TTATAATTTCTAAGTCGTGCACTTTCTCGGT CCACTCTTGT	
HIF1- alpha	低酸素誘導 因子1, alpha サブ ユニット (ベータシッ ク・ヘリッ クス・ルー プ・ヘリッ クス型転写 因子)	557538	ATTTGAAAACCTTGGCAACCTTGGATTGGATG GATTGATATTTCTTAGTATAGAAGTTCTTGATA TAACTGAAAAATTAAGTTAAACACTTAATAAG TGGTGGTACTCAGCACTTTTAGATGCTGTTT ATAATAGATGACCTTTCTAATAATTTACAGT TTTTGAAGATAACTGAGAGGTTGAGGGAC GGAGATTTTCTCAAGCAATTTTTCAT TTAAATGAGCTCCCAATGTCGGAGTTTGAA AACAAATTTGTCTTTTAAAAGAAGGTCTAGG AAACCTCAAAACCTGAAGAATTGGAAGAAATC AGAATAGAAAATGGTAGGATAAGTTCTGAAC GTCGAAAAGAAAAGTCTCGAGATGCAGCCAG ATCTCGGCGAAGTAAAGAATCTGAAGTTTTT ATGAGCTTGCTCATCAGTTGCCACTTCCACAT AATGTGAGTTCGCATCTTGATAAGCCTCTGT GATGAGGCTTACCATCAGCTATTTGCGTGTGA GGAACTTCTGGATGCTGGTGATTGATATT GAAATGACATGAAAGCACAGATGAATTGCT TTTATTTGAAAGCCTTGGATGGTTTTGTTATG GTTCTCACAGATGATGGTGACATGATTACAT TTCTGATAATGTGAACAAATACATGGGATTAA CTCAGTTTGAACAACTGGACACAGTGTGTTT GATTTTACTCATCCATGTGACCATGAGGAAAT GAGAGAAATGCTTACACACAGAAATGCGCTT GTGAAAAGGGTAAAGAACAAACACACAGC GAAGCTTTTTCTCAGAATGAAGTGACCTA ACTAGCCGAGGAAGAACTATGAACATAAAGT CTGCAACATGGAAGGTATTGCACTGCACAGG CCACATTACGTATATGATACCAACAGTAACC AACCTCAGTGTGGGTATAAGAAACCACCTATG	6609

10

20

30

30

	ACCTGCTTGGTGCTGCTGATTGTGAACCCATTCC TCACCCATCAAATATTGAAATTCCTTTAGATA GCAAGACTTTTCCTCAGTCGACACAGCCTGGA TATGAAATTTTCTTATTGTGATGAAAGAATTA CCGAATTGATGGGATATGAGCCAGAAGAACT TTTAGGCCGCTCAATTTATGAATATTATCATGC TTTGGACTCTGATCATCTGACCAAAACTCATC ATGATATGTTACTAAAGGACAAGTCACCACA GGACACTACAGGATGCTTGCCAAAAGAGGTG GATATGTCTGGGTTGAAACTCAAGCAACTGT CATATATAACACCAAGAAATTCACACCAGT GCATTGTATGTGTGAATTACGTTGTGAGTGCT ATTATTCAGCACGACTTGATTTTCTCCCTTCA ACAAAACAGAATGTGTCTTAAACCGGTTGAAT CTTCAGATATGAAAATGACTCAGCTATTCACC AAAAGTTGAATCAGAAGATACAAAGTAGCCTCTT TGACAAACTTAAAGAAGAACCTGATGCTTTAA CTTTGCTGGCCCCAGCCGCTGGAGACACAAT CATATCTTTAGATTTTGGCAGCAACGACACAG AAACTGATGACCAGCAACTTGAGGAACTACC ATTATATAATGATGTAATGCTCCCTCAGCCA ACGAAAAAATTACAGAATATAAATTTGGCAATG TCTCCATTACCCACCGCTGAAACGCCAAAGC CACTTCGAAGTAGTGCTGACCCTGCACTCAA TCAAGAAAGTTGCATTAATAAGAACCAAATC CAGAGTCACCTGGAACCTTTCTTTTACCATGCCC CAGATTCAGGATCAGACACCTAGTCCTTCCG ATGGAAGCACTAGACAAAGTTCACCTGAGCC TAATAGTCCCACTGAATATTGTTTTATGTGG ATAGTGATATGGTCAATGAATTCAGTTGGAA TTGGTAGAAAAAATTTTTGCTGAAGACACAG AAGCAAAAGAACCCATTTTCTACTCAGGACAC AGATTTAGACTTGGAGATGTTAGCTCCCTATA TCCCAATGGATGATGACTTCCAGTTACGTTCC TTCGATCAGTTGTACCATTAGAAAGCAGTTC CGCAAGCCCTGAAAGCGCAAGTCCTCAAAGC ACAGTTACAGTATTCAGCAGACTCAAATACA AGAACCTACTGCTAATGCCACCCTACCCTG CCACCCTGATGAATTAATAAAGCTGACAAA AGACCGTATGGAAGACATTAATAATATTGATTG CATCTCCATCTCCTACCCACATACATAAAGAA ACTACTAGTGCCACATCATCACCATATAGAGA TACTCAAAAGTCGGACAGCCTCACCAAAACAGA GCAGGAAAAAGGAGTCATAGAACAGACAGAAA
--	--

【表 0 0 2 7 - 1 2】

			AATCTCATCCAAGAAGCCCTAACGTGTTATCT GTCGCTTTGAGTCAAAGAACTACAGTTCCTG AGGAAGAACTAAATCCAAAGATACTAGCTTTG CAGAATGCTCAGAGAAAGCGAAAAATGGAAC ATGATGGTTCACCTTTTCAAGCAGTAGGAATT GGAACATTATTACAGCAGCCAGACGATCATGC AGCTACTACATCACTTTCTTGAAAACGTGTAA AAGGATGCAAATCTAGTGAACAGAATGGAAT GGAGCAAAAAGACAATTATTTTAATACCCCTCTG ATTTAGCATGTAGACTGCTGGGGCAATCAATG GATGAAAGTGGATTACCACAGCTGACCAATT ATGATTGTGAAGTTAATGCTCCTATACAAGGC AGCAGAAACCTACTGCAGGGTGAAGAATTAC TCAGAGCTTTGGATCAAGTTAACTGAGCTTTT TCTTAATTTCACTCCTTTTTTTGGACACTGGT GGCTCATTACCTAAAGCAGTCTATTTATATTTT CTACATCTAATTTTAGAAGCCTGGCTACAATA CTGCACAACTTGTTAGTTCAATTTTGATCC CCTTTCTACTTAATTTACATTAATGCTCTTTT TAGTATGTTCTTTAATGCTGGATCACAGACAG CTCATTTTCTCAGTTTTTGGTATTAAACCAT TGCATTGCAGTAGCATCATTTTAAAAAATGCA CCTTTTATTTATTTATTTTGGCTAGGGAGTT TATCCCTTTTTCGAATTATTTTAAAGAAGATGC CAATATAATTTTGTAAAGAAGGCAGTAACCTT TCATCATGATCATAGGCAGTTGAAAAATTTT ACACCTTTTTTTCACATTTTACATAAATAATA ATGCTTTGCCAGCAGTACGTGGTAGCCACAA TTGCACAATATATTTCTTAAAAAATACCAGC AGTTACTCATGGAATATATCTGCGTTTATAAA ACTAGTTTTTAAGAAGAAATTTTTTTGGCCT ATGAAATTGTAAACCTGGAACATGACATTGT TAATCATATAATAATGATTCTTAAATGCTGTAT GGTTTATTATTTAAATGGGTAAAGCCATTTAC ATAATATAGAAAGATATGCATATATCTAGAAGG	10
			GACAGGAGGATCACCTCTTCGTCGCTTCGG CCAGTGTGTCGGGCTGGGCCCTGACAAGCCA CCTGAGGAGAGGCTCGGAGCCGGGCCCGGA CCCCGGCGATTGCCGCCCGCTTCTCTAGT CTCACGAGGGGTTTCCCGCCTCGCACCCCA CCTCTGGAATTGCCTTTCCTTCTCTTCTCCGC GTGTGGAGGGAGCCAGCGCTTAGGCCGGAG CGAGCCTGGGGGCCGCCCGCGTGAAGACAT CGCGGGGACCGATTACCATGGAGGGCGCCG	20
HIF1- alpha	低酸素誘導 因子1, alpha サブ ユニット (ペーシッ ク・ヘリッ クス・ルー プ・ヘリッ	394997	GACAGGAGGATCACCTCTTCGTCGCTTCGG CCAGTGTGTCGGGCTGGGCCCTGACAAGCCA CCTGAGGAGAGGCTCGGAGCCGGGCCCGGA CCCCGGCGATTGCCGCCCGCTTCTCTAGT CTCACGAGGGGTTTCCCGCCTCGCACCCCA CCTCTGGAATTGCCTTTCCTTCTCTTCTCCGC GTGTGGAGGGAGCCAGCGCTTAGGCCGGAG CGAGCCTGGGGGCCGCCCGCGTGAAGACAT CGCGGGGACCGATTACCATGGAGGGCGCCG	6610

10

20

30

【表 0 0 2 7 - 1 3】

	クス型転写 因子)	GCGGCGCGAACGACAAGAAAAATAGGATAAG TTCTGAACGTCGAAAAGAAAAGTCTCGAGAT GCAGCCAGATCTCGGCGAAGTAAAGAAATCTG AAGTTTTTTATGAGCTTGCTCATCAGTTGCCA CTTCCACATAATGTGAGTTTCGCATCTTGATAA GGCCTCTGTGATGAGGCTTACCATCAGCTATT TGCGTGTGAGGAACTTCTGGATGCTGGTGA TTTGGATATTGAAGATGACATGAAAGCACAGA TGAATTGCTTTTATTTGAAAGCCTTGGATGGT TTTGTATGGTTCTCACAGATGATGGTGACAT GATTTACATTTCTGATAATGTGAACAAATACA TGGGATTAACCTCAGTTTGAACCTAAGGACAC AGTGTGTTGATTTTACTCATCCATGTGACCA TGAGGAAATGAGAGAAATGCTTACACACAGA AATGGCCTTGTGAAAAGGGTAAAGAACAAA ACACACAGCGAAGCTTTTCTCAGAATGAA GTGTACCCTAACTAGCCGAGGAAGAACTATG AACATAAAGTCTGCAACATGGAAGGTATTGCA CTGCACAGGCCACATTACGTATATGATACCA ACAGTAACCAACCTCAGTGTGGGTATAAGAA ACCACCTATGACCTGCTTGGTGCTGATTTGTG AACCATTCTCAGGATCAAATATTGAAATT CCTTTAGATAGCAAGACTTCTCAGTCGACA CAGCCTGGATATGAAATTTCTATTGTGATG AAAGAATTACCGAATTGATGGGATATGAGCCA GAAGAAGCTTTAGGCGGCTCAATTTATGAATA TTATCATGCTTTGGACTCTGATCATCTGACCA AAACTCATCATGATATGTTTACTAAAGGACAA GTCACCACAGGACAGTACAGGATGCTTGCCA AAAGAGGTGGATATGTCTGGGTTGAAACTCA AGCAACTGTCATATATAACACCAAGAATTCTC AACCACAGTGCATTGTATGTGTGAATTACGTT CTGAGTGGTATTATTCAGCACGACTTGATTTT CTCCCTTCAACAAACAGAAATGTGCTTAAAC CGGTGAATCTTCAGATATGAAATGACTCAG CTATTCACCAAAGTTGAATCAGAAGATACAAG TAGCCTCTTTGACAACTTAAGAAGGAACCT GATGCTTTAACTTTGCTGGCCCCAGCCGCTG GAGACACAATCATATCTTTAGATTTTGGCAGC AACGACACAGAACTGATGACCAGCAACTTG AGGAAGTACCATTATATAATGATGTAATGCTC CCCTACCCAACGAAAAATTACAGAATATAAA TTTGGCAATGTCTCCATTACCCACCGCTGAAA CGCCAAAGCCACTTCGAAGTAGTGCTGACCC
--	--------------	--

10

20

30

【表 0 0 2 7 - 1 4】

	TGCACTCAATCAAGAAAGTTGCATTAAAAATTAG AACCAAATCCAGAGTCACTGGAACCTTCTTTT ACCATGCCCCAGATTGAGATCAGACACCTA GTCCTTCCGATGGAAGCACTAGACAAAAGTTC ACCTGAGCCTAATAGTCCCACTGAATATTGTT TTTATGTGGATACTGATATGGTCAATGAATTC AAGTTGGAATTGGTAGAAAACTTTTTGCTGA AGACACAGAAGCAAAAGAACCCATTTCTACT CAGGACACAGATTTAGACTTGAGAGTGTTAG CTCCCTATATCCAATGGATGATGACTTCCAG TTACGTTCCCTTCGATCAGTTGTCACCATAGA AAGCAGTTCGCGAAGCCCTGAAAGCGCAAGT CCTCAAAGCACAGTTACAGTATTCCAGCAGA CTCAAATACAAGAACCTACTGCTAATGCCACC ACTACCACTGCCACCACTGATGAATTAAAAAC AGTGACAAAAAGACCGTATGGAAGACATTAAA ATATTGATTGCATCTCCATCTCCTACCCACATA CATAAAGAACTACTAGTGCCACATCATCACC ATATAGAGATACTCAAAGTCGGACAGCCTCAC CAAACAGAGCAGGAAAAAGGAGTCATAGAACA GACAGAAAAATCTCATCCAAGAACCCCTAAC GTGTTATCTGTCGCTTTGAGTCAAAGAACTAC AGTTCCTGAGGAAGAACTAAATCCAAAGATA CTAGCTTTGCAGAATGCTCAGAGAAAGCGAA AAATGGAACATGATGGTTCACTTTTTCAAGCA GTAGGAATTGGAACATTATTACAGCAGCCAGA CGATCATGCAGCTACTACATCACTTCTTGGA AACGTGTAAAAGGATGCAAATCTAGTGAACA GAATGGAATGGAGCAAAAGACAATTATTTTAA TACCCTCTGATTAGCATGTAGACTGCTGGGG CAATCAATGGATGAAAGTGGATTACCACAGCT GACCAGTTATGATTGTGAAGTTAATGCTCCTA TACAAGGCAGCAGAAAACCTACTGCAGGGTGA AGAATTACTCAGAGCTTTGGATCAAGTTAACT GAGCTTTTTCTTAATTTTCATTCCTTTTTTGG CACTGGTGGCTCATTACCTAAAGCAGTCTATT TATATTTTCTACATCTAATTTTAGAAGCCTGGC TACAATACTGCACAAAACCTGGTTAGTTCAATT TTGATCCCCTTTCTACTTAATTTACATTAATGC TCTTTTTTAGTATGTTCTTTAATGCTGGATCAC AGACAGCTCATTTTCTCAGTTTTTGGTATTT AAACCATTGCATTGCAGTAGCATCATTTTAAA AAATGCACCTTTTTATTATTTATTTTTGGCTA GGGAGTTTATCCCTTTTTCGAATTATTTTAA	10 20 30
--	---	-------------------------------

【表 0 0 2 7 - 1 5】

		GAAGATGCCAATATAATTTTTGTAAGAAGGCA GTAACCTTTCATCATGATCATAGGCAGTTGAA AAATTTTACACCTTTTTTTCACATTTTACAT AAATAATAATGCTTTGCCAGCAGTACGTGGTA GCCACAATTGCACAATATATTTCTTAAAAAA TACCAGCAGTTACTCATGGAATATATTCTGCG TTTATAAACTAGTTTTTAAGAAGAAATTTTTT TTGGCCTATGAAATTGTTAAACCTGGAACATG ACATTGTTAATCATATAATAATGATTCTTAAAT GCTGTATGGTTTATTATTAAATGGGTAAAGC CATTTACATAATATAGAAAGATATGCATATATC TAGAAGGTATGTGGCATTATTTGGATAAAAT TCTCAATTCAGAGAAATCATCTGATGTTCTA TAGTCACTTTGCCAGCTCAAAAGAAAAACAATA CCCTATGTAGTTGTGGAAGTTTATGCTAATAT TGTGTAACCTGATATTAAACCTAAATGTTCTGC CTACCCTGTTGGTATAAAGATATTTTGAGCAG ACTGTAAACAAGAAAAAAAAAATCATGCATTC TTAGCAAAATTGCCTAGTATGTTAATTTGCTC AAAATACAATGTTTGATTTTATGCACTTTGTC GCTATTAACATCCTTTTTTTCATGTAGATTTC ATAATTGAGTAATTTAGAACGATTATTTAGG AATATATAGTTGTACAGTAAATATCTTGTTTT TTCTATGTACATTGTACAAATTTTCATTCTT TTGCTCTTTGTGGTTGGATCTAACACTAACTG TATTGTTTTGTTACATCAAATAACATCTTCTG TGGACCAGG	
--	--	--	--

10

20

30

表 2 8 . 滴定実験のための追加のターゲットのためのペプチド配列

40

【表 0 0 2 8 - 1】

標的	標的の記述	ENSP ID	タンパク質配列	SEQ ID NO
HIF2-alpha	低酸素誘導因子2, alpha サブユニット; 内皮PAS領域タンパク質1	263734	MTADKEKKRSSSERRKEKSRDAARCRRSKET EVFYELAHELPLPHSVSSHLDKASIMRLAISFL RTHKLLSSVCSENESEAEADQQMDNLYLKAL EGFIAVVTQDGMIFLSENISKFMGLTQVELT GHSIFDFTHPCDHEEIRENLSLKNGSGFGKKS KDMSTERDFFMRMKCTVTNRGRTVNLKSAT WKVLHCTGQVKVYNNCPPHNSLCGYKEPLLS CLIMCEPIQHPSHMDIPLDSKTFLSRHSMDM KFTYCDDRITELIGYHPEELLGRSAYEFYHAL DSENMTKSHQNLCTKGQVVGQYRML AKHGGYVWLETQGTVIYNPRNLQPPQIMCVN YVLSEIEKNDVVFSSMDQTESLFKPHLMAMNS IFDSSGKGAVSEKSNFLFTKLKEEPEELAQLA PTPGDAIISLDFGNQNFEESSAYGKAILPPSQP WATELRSHSTQSEAGSLPAFTVPQAAAPGSTT PSATSSSSSCTPNSPEDYYTSLDNDLKIEVIE KLFAMDTAEKDCSTQTDNFELDLETLPYIP MDGEDFQLSPICPEERLLAENPQSTPQHCFSA MTNIFQPLAPVAPHSPFLDKFQQQLLESKTE PEHRPMSSIFFDAGSKASLPCCGQASTPLSS MGGRSNTQWPPDPPLHFGPTKWAVGDQRTE FLGAAPLGPPVSPPHVSTFKTRSAKGF'GARGP DVLSPAMVALSNKLKLRQLEYEEQAFQDLS GGDPPGGSTSHLMWKRMKNLRGGSCPLMPD KPLSANVPNDKFTQNPMLGLGHPLRHLPLPQ PPSAISPGENSKSRFPQCYATQYQDYSLSAH KVSGMASRLLGPSFESYLLPELTRYDCEVNVP VLGSSTLLQGGDLLRALDQAT	6611
pVHL	フォン・ヒッペル・ランダウ腫瘍抑制剤	256474	MPRAENWDEAEVGAEAGVEEYGPEDGG EESGAEESGPEESGPEELGAEEMEAGRPRP VLRSVNSREPSQVIFCNRSRVLVWLNFDG EPQPYPTLPPGTGRIHSYRGHLWLFRDAGTH DGLLVNQTELFVPSLNVDDGQPIFANITLPVYTL KERCLQVVRSLVKPENYRRLDIVRSLYEDLED HPNVQKDLERLTQERIAHQRMGD	6612
pVHL	フォン・ヒッペル・ランダウ腫瘍	344757	MPRAENWDEAEVGAEAGVEEYGPEDGG EESGAEESGPEESGPEELGAEEMEAGRPRP VLRSVNSREPSQVIFCNRSRVLVWLNFDG EPQPYPTLPPGTGRIHSYRVYTLKERCLQVV	6613

10

20

30

【表 0028-2】

	抑制剤		RSLVKPENYRRLDIVRSLYEDLEDHPNVQKDL ERLTQERIAHQRMGD	
pVHL	フォン・ヒッペル・ランダウ腫瘍抑制剤	395399	MPRAENWDEAEVGAEAGVEEYGPEEDSY RGHLWLFRRDAGTHDGLLVNQTELFVPSLNVD GQPIFANITLPVYTLKERCLQVVRSLVKPENYR RLDIVRSLYEDLEDHPNVQKDLERLTQERIAH QRMGD	6614
HIF1- alpha	低酸素誘導因子1, alpha サブユニット (バーシック・ヘリックス・ループ・ヘリックス型転写因子)	451696	MRLTISYLRVRKLLDAGDLIEDDMKAQMNC FYLKALDGFVMVLTDDGDMYISDNVNKYMGL LTQFELTGHSVDFTHPCDHEEMREML THRNLVKKGKEQNTQRSFFLRMKCTLTSRG RTMNIKSATWKVLHCTGHIHVYDTNSNQPC GYKKPPMTCVLICEPIPHPSNIEIPLDSKTFL SRHSLDMKFSYCDERITELMGYEPEELLGRSI YEYYHALDSHDLTKTHHDMFTKGQVTTGQY RML AKRGGYVWVETQATVIYNTKNSQPQCIVCVN YVVSQGHQDLIFSLQQTQTECVLKPVESSDMKM TQLFTKVESEDTSSLFDKLLKEPDALTLLAPA AGDTIISLDFGSNDTETDDQQLLEEVPLYNDVM L PSPNEKLQNINLAMSPLPTAETPKPLRSSADP ALNQEVALKLEPNPESLELSFTMPQIQDQTPS PSDQSTRQSSPEPNPSEYCFYVDSMDVNEFK LELVEKLFAEDTEAKNPFSTQDTDLDEML APYIPMDDDFQLRSFDQLSPLESSASPESASP QSTVTVFQQTQIQEPTANATTTTATTTDELKTVT KDRMEDIKILIASPSPTHIHKETTSATSSPYRD TQSRASPNRAGKGVIEQTEKSHPRSPNVLSV ALSQRTTVPEEELNPKILALQNAQRKRKMEH DGSLLFQAVGIGTLLQQPDDHAATTSWKRKVK GCKSSEQNGMEQKTIILIPSDLACRLLGQSMD ESGLPQLTSYDCEVNAPIQGSRNLLQGEELLR ALDQVN	6615
HIF1- alpha	低酸素誘導因子1, alpha サブユニット (バーシック・ヘリックス)	378446	MEGAGGANDKKNRISSERRKEKSRDAARSRR SKESEVFYELAHQLPLPHNVSSHLDKASVMR LTISYLRVRKLLDAGDLIEDDMKAQMNCFYL KALDGFVMVLTDDGDMYISDNVNKYMGLTQ FELTGHSVDFTHPCDHEEMREML THRNLVKKGKEQNTQRSFFLRMKCTLTSRG	6616

10

20

30

【表 0 0 2 8 - 3】

	クス・ルー プ・ヘリッ クス型転写 因子)	RTMNIKSATWKVLHCTGHIHVYDTNSNQPC GYKKPPMTCLVLICEPIPHPSNIEIPLDSKTFL SRHSLDMKFSYCDERITELMGYPEEELLGRSI YEYYHALDSDHLLTKTHHDMFTKGQVTTGQY RML AKRGGYVWVETQATVIYNTKNSQPQCIVCVN YVSGHIQHDLIFSLQQTECVLKPVESSDMKM TQLFTKVESEDTSFLFDKLKKEPDALTLLAPA AGDTIISLDFGSNDTETDDQQLEEVPLYNDVM L PSPNEKLQNINLAMSPLPTAETPKPLRSSADP ALNQEVALKLEPNPESLELSFTMPQIQDQTPS PSDGSTRQSSPEPNPSEYCFYVDSDMVNEFK LELVEKLFAEDTEAKNPFSTQDLDLEML APYIPMDDDFQLRSFDQLSPLESSASPESASP QSTVTVFQQTQIQEPTANATTTTATDELKTVT KDRMEDIKILIASPSPTHIHKETTSATSSPYRD TQSRTASPNRAGKGVIEQTEKSHPRSPNLSV ALSQRTTVPEEELNPKILALQNAQRKRKMEH DGSLLFQAVGIGTLLQQPDDHAATTSLSWKRVK GCKSSEQNGMEQKTIILIPSDLACRLLGQSM ESGLPQLTSYDCEVNAPIQGSRNLLQGEELLR ALDQVN
--	--------------------------------	--

10

20

30

【1 0 2 4】

実施例 2 7 ～ 3 3 の材料

40

表 2 9 は、実施例 2 7 ～ 3 3 に記載の修飾 m R N A 配列を説明している。

表 2 9

【表 0029-1】

標的	mRNA配列(配列には示されていないポリA尾部および5'キャップ)	SEQ ID NO
アポトーシス誘導因子シロート (AIFsh)	GGGAAAUAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUUAAG AGCCACCAUGGAAAAAGUCAGACGAGAGGGGUUAAGGUG AUGCCCAAUGCUAUUGUGCAAUCCGUUGGAGUCAGCAGU GGCAAGUUACUUAUCAAGCUGAAAAGACGGCAGGAAGGUA GAAACUGACCACAUAGUGGCAGCUGUGGGCCUGGAGCCCA AUGUUGAGUUUGCCAAAGACUGGUGGCCUGGAAAUAGACU CAGAUUUUGUGGCUUCCGGGUAAAUGCAGAGCUACAAG CACGCUCUAAACAUCUGGUGGCAGGAGAUUGCUGCAUGCU UCUACGAUUAAGUUGGGAAGGAGGCGGGUAGAGCACC AUGAUCACGCUGUUGUGAGUGGAAGAUUGGCUGGAGAAA AUAUGACUGGAGCUGCUAAGCCGUACUGGCAUCAGUCAA UGUUCUGGAGUGAUUUUGGGCCCCGAUGUUGGCUAUGAAG CUAUUGGUCUUGUGGACAGUAGUUUGCCCACAGUUGGUG UUUUUGCAAAAGCAACUGCACAAGACAACCCCAAUCUGC CACAGAGCAGUCAGGAACUGGUAUCCGAUCAGAGAGUGAG ACAGAGUCCGAGGCCUCAGAAAUACUAUUCUCCCGAGCA CCCCGGCAGUCCACAGGCUCGCCUGCCAGGGGGAGGACUA CGGCAAAAGGUGUCAUCUUCUACCUCAGGACAAAAGUGGU CGUGGGGAUUUGGCUAUGGAACAUCUUAAACCGAAUGCC AAUAGCAAGGAAGAUCAUUAAGGACGGUGAGCAGCAUGAA GAUCUCAUAGAAGUAGCCAAACUAUUAACAUAUCAUGAAG ACUGAUAAUAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUCUUCUG CCCCUUGGGCCUCCCCCAGCCCCUCCUCCCUUCCUGCA CCCGUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGC GGC	6617
Siah E3 ユビキチン・タンパク質リガーゼ 1(SIAH1)	GGGAAAUAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUUAAG AGCCACCAUGAGCCGUCAGACUGCUACAGCAUUAACCUACC GGUACCUCGAAGUGUCCACCAUCCAGAGGGUGCCUGCCC UGACUGGCACAACUGCAUCCAACAAUGACUUGGCAGUCU UUUUGAGUGUCCAGUCUGCUUUGACUAUGUGUUACCGCC CAUUCUUCAAUGUCAGAGUGGCCAUCUUGUUUGUAGCAA CUGUCGCCCAAAGCUCACAUGUUGUCCAACUUGCCGGGG CCCUUUGGGAUCCAUUCGCAACUUGGCUAUGGAGAAAAGU GGCUAAUUCAGUACUUUCCCCUGUAAAUAUGCGUCUUC UGGAUGUGAAAUAACUCUGCCACACAGAAAAAGCAGAC CAUGAAGAGCUCUGUGAGUUUAGGCCUUAUUCUGUCCG UGCCCUGGUGCUUCCUGUAAAUGGCAAGGCUCUCUGGAU GCUGUAAUGCCCCAUCUGAUGCAUCAGCAUAAGUCCAUA ACAACCCUACAGGGAGAGGAUAUAGUUUUUCUUGCUACA GACAUUAAUCUUCUGGUGCUGUUGACUGGGUGAUGAUG CAGUCCUGUUUUGGCUUUCACUUAUGUUAGUCUUAGAG	6618

10

20

30

【表 0029-2】

	AAACAGGAAAAUACGAUGGUCACCAGCAGUUCUUCGCAA UCGUACAGCUGAUAGGAACACGCAAGCAAGCUGAAAAUUU UGC UUACCGACUUGAGCUAAAUGGUCUAGGCGACGAUU GACUUGGGAAGCGACUCCUUGAUCUAUUCAUGAAGGAAU UGCAACAGCCAUUAUGAAUAGCGACUGUCUAGUCUUUGA CACCAGCAUUGCAGACGUUUUUUGCAGAAAAUGGCAUUU AGGCAUCAAUUGUAACUAUUUCCAUGUGUUGAUAAUAGGC UGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCCCCUUGGGCCUC CCCCAGCCCCUCCUCCCCUUCUGCACC CGUACCCCCGU GGUCUUUGAAUAAAAGUCUGAGUGGGCGGC	
構成的活 性型 (C.A. カ スパーゼ 3 (逆カス パーゼ 3 としても 知られる (Rev-カス パーゼ3))	GGGAAAUAAGAGAGAAAAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAG AGCCACCAUGAUUGAGACAGACAGUGGUGUUGAUGAUGA CAUGGCGUGUCAUAAAAUACCAGUGGAGGCCGACUUCUU GUAUGCAUACUCCACAGCACCUGGUUAUUUUCUUGGCG AAAUUCAAAAGGAUGGCUCUGGUUCAUCCAGUCGCUUUG UGCCAUGCUGAAACAGUAUGCCGACAAGCUUGAAUUUAU GCACAUUCUUACCCGGGUUAACCGAAAGGUGGCAACAGAA UUUGAGUCCUUUUCCUUUGACGCUACUUUUC AUGCAAAG AAACAGAUUCCAUGUAUUGUUUCCAUGCUCACAAAAAGAAC UCUAUUUUUAUCACGAUGAAGUUUGAUGGGGGAUCCCCCA UGGAGAAACACUGAAAAACUCAGUGGAUUCAAAAUCCAUAUA AAAUUUGGAACCAAAGAUCAUACAUGGAAGCGAAUCAAUG GACUCUGGAAUAUCCUGGACAACAGUUUAAAAUUGGAU UAUCCUGAGAUGGGUUUAUGUAUAAUAAUAAUAAUAAAG AAUUUUCAUAAAGAGCACUGGAAUGACAUCUGGUCUGGU ACAGAUGUCGAUGCAGCAAACCUACGGGAAACAUUCAGAA ACUUGAAAUAUGAAGUCAGGAUAAAAUUGAUCUUACACG UGAAGAAAUUGUGGAAUUGAUGCGUGAUGUUUCUAAAGA AGAUCACAGCAAAAAGGAGCAGUUUUGUUUGUGUGCUUCU GAGCCAUUGGUGAAGAAGGAAUAAUUUUUGGAACAAAUUG ACCGUUGAGCCUGAAAAAAUAACAAACUUUUUCAGAGGG GAUCGUUGUAGAAGUCUAAUCUGGAAAACCCAAACUUUUC AUUAUUCAGGCCUGCCUGGUACAGAACUGGACUGUGGC AUUGAGACAGACUGAUAAUAGGCUGGAGCCUCGUGGCC AUGCUUCUUGCCCCUUGGGCCUCCCCCAGCCCCUCCUCC CCUCCUGCACC CGUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGU CUGAGUGGGCGGC	6619
グラニュ ライシン	GGGAAAUAAGAGAGAAAAAGAGUAAGAAGAAAUAUAAG AGCCACCAUGGCAACUUGGGCCCUGCUGCUUCUUGCAGC CAUGUUGCUCGGAUUCCUGGUCUGGUGUUUUCGCGCCU UUCACCGAGUACUACGAUCUCGUCGCGCACAUUCGCGC GACGAGGAGAAGUCGUGCCCAUGUCUCGCACAAGAAAGGC CACAGGUGAGCCUUUGACCAAGACGCAAGAACUUGGCAG GGACUACCGAACCUGUCUGACCAUCGUGCAAAAGCUGAAG	6620

10

20

30

【表 0029-3】

	AAAAUGGUCGAUAAACCUACCCAAAAGCGUGUCCAACG CAGCGACUCGGGUGUGCCGGACUGGCAGAUCCAGAUGGC GGGAUUGUGUGUAGAAACUUCAGAGAAGGUACCAGAGCC GUGUUACUCAGGGACUGGUCGCGGGAGAAACUGCCCAAC AGAUUUGCGAAGAUCUGCGACUCUGUAUUCUUAACCG GACCCCUUUGAUAAUAGGCGUGGAGCCUCGGUGGCCAUGC UUCUUGCCCUUGGGCCUCCCCCAGCCCCUCCUCCCCU CCUGCACCCGUACCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGA GUGGGCGGC	
MYC阻害 剤D	GGGAAAUAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUUAAG AGCCACCAUGACCGAAGAAAACGUCAAGAGAAGAACCAU AAUGUCCUCGAGCGCCAGCGGCGCAAUGAGCUCAAGCGCA GCUUCUUUGCACUCAGGGACCAAUUCCAGAGUUGGAGA ACAACGAAAAGGCCCGAAGGUGUGAUCUUAAGAAGGC GACUGCCUACAUCUGUGCGGUGCAGGCUGAGACUAAAAAG CUGAUCUCCGAAAUCGAUCUGCUCGGAACAGAACGAAC AACUGAAACACAAACUGGAACAGCUGCGGAUUAUGCUG AUAAUAGGCGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCCCC UUGGGCCUCCCCCAGCCCUCCUCCCUUCCUGCACCCG UACCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC	6621

10

【1025】

20

実施例 27. アポトーシス誘導因子の短いタンパク質の検出：ウエスタンブロット法

C D 1 マウス (Harlan Laboratories、サウスイーストン、マサチューセッツ州) に、lipoplex 化アポトーシス誘導因子ショート (AIFsh) 修飾 mRNA (表 29 に示される mRNA 配列、配列に示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) を静脈投与し、当該修飾 mRNA は、5 メチルシチジンおよびプソイドウリジン (5mC/pU) で完全修飾され、および 5 メチルシチジンおよび 1-メチルプソイドウリジン (5mC/1mpU) で完全修飾され、2-チオウリジンで修飾された 25% のウリジン、および 5 メチルシチジン (s2U と 5mC) で修飾された 25% のシチジン、プソイドウリジン (pU) で完全修飾され、または 1-メチルプソイドウリジン (1mpU) で完全修飾された。マウスに、100 μl の滅菌基礎 DMEM 培地 (添加剤なし、Life Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州) 中、2 μl のリポフェクタミン 2000 (Life Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州) と複合された 2 μg の mRNA の用量を投与した。

30

【1026】

6 時間後、動物を屠殺し、血清と脾臓を収集する。脾臓を 6 ウェルプレートに移し、1 ml の PBS の存在下で、氷に維持した。1 つの脾臓をメスで数回切り分け、PBS が細胞の放出によって濁るまで、脾細胞をゴム細胞スクレーパーで絞り出した。

【1027】

線維状成分を残して、細胞を 12 ウェル細胞培養プレートに位置する 100 μm 細胞ストレーナー (BD Biosciences 社、サンノゼ、CA) に移した。重力により細胞を細胞ストレーナーに通し、12 ウェル培養皿の下に収集した。1 ml の PBS をエッペンドルフチューブに自由に浮遊している脾細胞と共に移動させ、2000 rpm で 5 分間遠心した。PBS を捨て、細胞ペレットを 500 μl の新鮮な PBS と合わせた。脾細胞を、2000 rpm で 5 分間の短時間ボルテックスすることにより再懸濁した。PBS を捨て、1 ml の BD Pharmlyse を細胞ペレットに添加した。脾細胞を短時間のボルテックスによって再懸濁した。細胞を、室温で 3 分間インキュベートし、次に 5 分間、200 rpm で遠心した。細胞を 500 μl の PBS で 2 回洗浄し、上記のように遠心した。細胞を 500 μl の PBS で再懸濁し、上記のように遠心した。

40

【1028】

50

250 μ l の脾臓細胞を1倍のPharmlyse緩衝液と合わせ、短時間ボルテックスあるいはピペットで再懸濁し、2000 rpmで2分間遠心した。

【1029】

一本のチューブ中、哺乳動物細胞（Boston Bioproducts、アッシュランド、マサチューセッツ州）のためのプロテアーゼ阻害剤カクテルで、500 μ l のRIPA緩衝液中に細胞ペレットを再懸濁し、溶解物を凍結するか、すぐにBCAアッセイを続行する。第二のチューブ中、250 μ l のFACS染色キット固定液（4%のホルムアルデヒド、Rand Systems、ミネアポリス、ミネソタ州）を加え、次に室温で10分間インキュベートする。細胞を500 μ l のPBSで2回洗浄し、上記のように遠心した。細胞ペレットを500 PBSに再懸濁し、4℃で保存した。

10

【1030】

タンパク質溶解物を、1.5 mmのすぐに使用できるビストリスゲルを有するNuPAGE SDS-PAGEシステム（チャンバーと電源）に、助剤としてのMOPS緩衝液と共に4~12%のアクリルアミド勾配に充填した（全てLife Technologies社、グランドアイランド、ニューヨーク州）。各溶解物の試料を40 μ l の最終容量に調製した。当該試料は、可変体積の25 μ gのタンパク質溶解物、体積26 μ l を作製するためのRIPA緩衝液、4 μ l の10倍還元剤および10 μ l の4倍のSDSローディング緩衝液（両方ともLife Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州）を含有した。試料を5分間95℃で加熱し、ゲルに充填した。メーカーによって、200 V、120 mAおよび最大25 Wの標準設定を選択した。実行時間は60分であったが、色素が移動しゲルの下端に到達する時間を超えることはなかった。

20

【1031】

実行を終了した後、プラスチックケースを割り、容器に入っていたゲルは、すぐに使用できるニトロセルロース膜キットおよび電源（iBLOT、Life Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州）に移動した。デフォルト設定を使用して、タンパク質溶解物を、高アンペアの電力によって、ゲルから膜に移した。

【1032】

移動後、膜を15分間、1倍のTBS中、5%のBSA中でインキュベートし、次にさらに15分間、1倍のTBS+0.1%のTween中、5%のBSA中でインキュベートした。AIFshタンパク質に対する一次抗体（AIFshウサギポリクローナル抗体、Abcam、ケンブリッジ、マサチューセッツ州）を、室温で3時間、1:500~1:2000の希釈の1倍のTBS溶液中、3 mlの5%BSAに適用し、オービタルシェーカーで穏やかに攪拌した。膜を、1倍のTBS/0.1%のTweenで、穏やかに攪拌しながら、5分ずつ3回洗浄する。二次抗体（ヤギ抗ウサギHRPコンジュゲート、Abcam、ケンブリッジ、マサチューセッツ州）を、西洋ワサビペルオキシダーゼとコンジュゲートし、一次抗体に複合体化した。二次抗体を1倍のTBS中、5%BSAで、1:1000~1:5000で希釈し、室温で3時間インキュベートした。

30

【1033】

インキュベーション時間の終わりに、1倍のTBS/0.1%のTweenで穏やかに攪拌しながら、膜を5分ずつ3回洗浄した。指示通りに、膜を5 mlのPierce West Pico Chemiluminescent Substrate（Thermo Fisher、ロックフォード、イリノイ州）で展開した。

40

【1034】

図3Aおよび図3Bに示すように、ウェスタンブロットは、各化学的性質について評価された2つの試料それぞれについて、60 kDの予想されるサイズの周りにタンパク質を検出した。

【1035】

実施例28. Siah E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1タンパク質の検出：ウェスタンブロット法

50

CD1マウス(Harlan Laboratories、サウスイーストン、マサチューセッツ州)に、ipolexed siahe3ユビキチンタンパク質リガーゼ1(SIAH1)修飾mRNAを静脈内投与した(配列番号6618に示されるmRNA配列(表29)、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)、当該修飾mRNAは、5-メチルシチジンとプソイドウリジンで完全修飾され(5mC/pU)、5メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され(5mC/pU)、2-チオウリジンで修飾された25%のウリジンおよび5-メチルシチジンで修飾された25%のシチジン(s2Uおよび5mC)、プソイドウリジンで完全修飾され(pU)、または1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された(1mpU)。マウスに、100μlの滅菌基礎DMEM培地(添加剤なし、Life Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州)中、2μlのリポフェクタミン2000(Life Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州)と複合された2μgのmRNAの用量を投与した。

10

【1036】

6時間後、動物を屠殺し、血清および脾臓を収集する。脾臓を6ウェルプレートに移し、1mlのPBSの存在下で、氷に維持した。1つの脾臓をメスで数回切り分け、PBSが細胞の放出によって濁るまで、脾細胞をゴム細胞スクレーパーで絞り出した。

【1037】

線維状成分を残して、細胞を12ウェル細胞培養プレートに位置する100μm細胞ストレーナー(BD Biosciences社、サンノゼ、CA)に移した。重力により細胞を細胞ストレーナーに通し、12ウェル培養皿の下に収集した。1mlのPBSをエッペンドルフチューブに自由に浮遊している脾細胞と共に移動させ、2000rpmで5分間遠心した。PBSを捨て、細胞ペレットを500μlの新鮮なPBSと合わせた。脾細胞を、2000rpmで5分間の短時間ボルテックスすることにより再懸濁した。PBSを捨て、1mlのBD Pharmlyseを細胞ペレットに添加した。脾細胞を短時間のボルテックスによって再懸濁した。細胞を、室温で3分間インキュベートし、次に5分間、200rpmで遠心した。細胞を500μlのPBSで2回洗浄し、上記のように遠心した。細胞を500μlのPBSで2回洗浄し、上記のように再懸濁した。

20

【1038】

250μlの脾臓細胞を1倍のPharmlyse緩衝液と合わせ、短時間ボルテックスあるいはピペットで再懸濁し、2000rpmで2分間遠心した。

30

【1039】

1本のチューブ中、哺乳動物細胞(Boston Bioproducts、アッシュランド、マサチューセッツ州)のためのプロテアーゼ阻害剤カクテルで、500μlのRIPA緩衝液中に細胞ペレットを再懸濁し、溶解物を凍結するか、すぐにBCAアッセイを続行する。2番目のチューブ中、250μlのFACS染色キット固定液(4%のホルムアルデヒド、Rand D Systems、ミネアポリス、ミネソタ州)を加え、次に室温で10分間インキュベートする。細胞を500μlのPBSで2回洗浄し、上記のように遠心した。細胞ペレットを500μlのPBSに再懸濁し、4℃で保存した

40

【1040】

タンパク質溶解物を、1.5mmのすぐに見えるビストリスゲルを有するNuPAGE SDS-PAGEシステム(チャンバーと電源)に、助剤としてのMOPS緩衝液と共に4~12%のアクリルアミド勾配に充填した(全てLife Technologies社、グランドアイランド、ニューヨーク州)。各溶解物の試料を、最終容量を40μlに調製した。当該試料は、可変体積の25μgのタンパク質溶解物、体積26μlを作製するためのRIPA緩衝液、4μlの10倍還元剤および10μlの4倍のSDSローディング緩衝液(両方ともLife Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州)を含有した。試料を5分間95℃で加熱し、ゲルに充填した。メーカーによって、200V、120mAおよび最大25Wの標準設定を選択した。実行時間は60分であったが、色素が移動しゲルの下端に到達する時間を超えることはなかった

50

。

【1041】

実行を終了した後、プラスチックケースを割り、容器に入っていたゲルは、すぐに使用できるニトロセルロース膜キットおよび電源（iBLOT、Life Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州）に移動した。デフォルト設定を使用して、タンパク質溶解物を、高アンペアの電力によって、ゲルから膜に移した。

【1042】

移動後、膜を15分間、1倍のTBS中、5%のBSA中でインキュベートし、次にさらに15分間、1倍のTBS+0.1%のTween中、5%のBSA中でインキュベートした。SIAH1タンパク質に対する一次抗体（SIAH1ウサギポリクローナル抗体、Abcam、ケンブリッジ、マサチューセッツ州）を、室温で3時間、1:500~1:2000の希釈の1倍のTBS溶液中、3mlの5%BSAに適用し、オービタルシェーカーで穏やかに攪拌した。膜を、1倍のTBS/0.1%のTweenで、穏やかに攪拌しながら、5分ずつ3回洗浄する。二次抗体（ヤギ抗ウサギHRPコンジュゲート、Abcam、ケンブリッジ、マサチューセッツ州）を、西洋ワサビペルオキシダーゼとコンジュゲートし、一次抗体に複合体化した。二次抗体を1倍のTBS中、5%BSAで、1:1000~1:5000で希釈し、室温で3時間インキュベートした。

【1043】

インキュベーション時間の終わりに、膜を、1倍のTBS/0.1%のTweenで穏やかに攪拌しながら、5分ずつ3回洗浄した。指示通りに、膜を5mlのPierce West Pico Chemiluminescent Substrate（Thermo Fisher、ロックフォード、イリノイ州）で展開した。

【1044】

図4Aおよび図4Bに示すように、ウェスタンブロットは、各化学的性質について評価された2つの試料それぞれについて、31kdの予想されるサイズの周りにタンパク質を検出した。

【1045】

実施例29. リバースカスパーゼ3タンパク質の検出：ウェスタンブロット法

CD1マウス（ハーランラボラトリーズ、サウスイーストン、マサチューセッツ州）に、lipolex化構成的活性型（C.A.）カスパーゼ3（リバースカスパーゼ3またはRev-casparase3としても知られる）修飾mRNA（配列番号6619に示されるmRNA）を静脈投与し、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1）は5-メチルシチジンとプソイドウリジンで完全修飾され（5mC/pU）、5メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され（5mC/pU）、2-チオウリジンで修飾された25%のウリジンおよび5-メチルシチジンで修飾された25%のシチジン（s2Uおよび5mC）、プソイドウリジンで完全修飾され（pU）、または1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された（1mpU）。マウスに、100μlの滅菌基礎DMEM培地（添加剤なし、Life Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州）中、2μlのリボフェクタミン2000（Life Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州）と複合された2μgのmRNAの用量を投与した。

【1046】

6時間後、動物を屠殺し、血清および脾臓を収集する。脾臓を6ウェルプレートに移し、1mlのPBSの存在下で、氷に維持した。1つの脾臓をメスで数回切り分け、PBSが細胞の放出によって濁るまで、脾細胞をゴム細胞スクレーパーで絞り出した。

【1047】

線維状成分を残して、細胞を12ウェル細胞培養プレートに位置する100μm細胞ストレーナー（BD Biosciences社、サンノゼ、カリフォルニア州）に移した。重力により細胞を細胞ストレーナーに通し、12ウェル培養皿の下に収集した。1mlのPBSをエッペンドルフチューブに自由に浮遊している脾細胞と共に移動させ、200

10

20

30

40

50

0 rpmで5分間遠心した。PBSを捨て、細胞ペレットを500 μ lの新鮮なPBSと合わせた。脾細胞を、2000 rpmで5分間の短時間ボルテックスすることにより再懸濁した。PBSを捨て、1 mlのBD Pharmlyseを細胞ペレットに添加した。脾細胞を短時間のボルテックスによって再懸濁した。細胞を、室温で3分間インキュベートし、次に5分間、200 rpmで遠心した。細胞を500 μ lのPBSで2回洗浄し、上記のように遠心した。細胞を500 μ lのPBSで再懸濁し、上記のように遠心した。

【1048】

250 μ lの脾臓細胞を1倍のPharmlyse緩衝液と合わせ、短時間ボルテックスあるいはピペットで再懸濁し、2000 rpmで2分間遠心した。

【1049】

1本のチューブ中、哺乳動物細胞（Boston Bioproducts、アッシュランド、マサチューセッツ州）のためのプロテアーゼ阻害剤カクテルで、500 μ lのRIPA緩衝液中に細胞ペレットを再懸濁し、溶解物を凍結するか、すぐにBCAアッセイを続行する。2番目のチューブ中、250 μ lのFACS染色キット固定液（4%のホルムアルデヒド、Rand Systems、ミネアポリス、ミネソタ州）を加え、次に室温で10分間インキュベートする。細胞を500 μ lのPBSで2回洗浄し、上記のように遠心した。細胞ペレットを500 PBSに再懸濁し、4℃で保存した。

【1050】

タンパク質溶解物を、1.5 mmのすぐに使用できるビスートリスゲルを有するNuPAGE SDS-PAGEシステム（チャンバーと電源）に、助剤としてのMOPS緩衝液と共に4~12%のアクリルアミド勾配に充填した（全てLife Technologies社、グランドアイランド、ニューヨーク州）。各溶解物の試料を、最終体積を40 μ lに調製した。当該試料は、可変体積の25 μ gのタンパク質溶解物、体積26 μ lを作製するためのRIPA緩衝液、4 μ lの10倍還元剤および10 μ lの4倍のSDSローディング緩衝液（両方ともLife Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州）を含有した。試料を5分間95℃で加熱し、ゲルに充填した。メーカーによって、200 V、120 mAおよび最大25 Wの標準設定を選択した。実行時間は60分であったが、色素が移動しゲルの下端に到達する時間を超えることはなかった。

【1051】

実行を終了した後、プラスチックケースを割り、容器に入っていたゲルは、すぐに使用できるニトロセルロース膜キットおよび電源（iBLOT、Life Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州）に移動した。デフォルト設定を使用して、タンパク質溶解物を、高アンペアの電力によって、ゲルから膜に移した。

【1052】

移動後、膜を15分間、1倍のTBS中、5%のBSA中でインキュベートし、次にさらに15分間、1倍のTBS+0.1%のTween中、5%のBSA中でインキュベートした。標的タンパク質に対する一次抗体（カスパーゼ3ウサギポリクローナル抗体、Abcam、ケンブリッジ、マサチューセッツ州）を、室温で3時間、1:500~1:2000の希釈の1倍のTBS溶液中、3 mlの5%BSAに適用し、オービタルシェーカーで穏やかに攪拌した。膜を、1倍のTBS/0.1%のTweenで、穏やかに攪拌しながら、5分ずつ3回洗浄する。二次抗体（ヤギ抗ウサギHRPコンジュゲート、Abcam、ケンブリッジ、マサチューセッツ州）を、西洋ワサビペルオキシダーゼとコンジュゲートし、一次抗体に複合体化させた。二次抗体を1倍のTBS中、5%BSAで、1:1000~1:5000で希釈し、室温で3時間インキュベートした。

【1053】

インキュベーション時間の終わりに、膜を、1倍のTBS/0.1%のTweenで穏やかに攪拌しながら、5分ずつ3回洗浄した。指示通りに5 mlのピアースWestPico化学発光Substrate（サーモフィッシャー、ロックフォード、IL）で膜を展開した。

10

20

30

40

50

【1054】

図5Aおよび図5Bに示すように、ウェスタンブロットは、各化学的性質について評価された2つの試料それぞれについて、32kdの予想されるサイズの周りにタンパク質を検出した。

【1055】

実施例30. グラニュライシントタンパク質の検出：ウェスタンブロット法

CD1マウス(Harlan Laboratories、サウスイーストン、マサチューセッツ州)に、lipoplex化グラニュライシンmRNA(配列番号6620(表29)に示されるmRNA、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)を静脈内投与し、当該mRNA配列は、5-メチルシチジンとプソイドウリジンで完全修飾され(5mC/pU)、5メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され(5mC/1mpU)、2-チオウリジンで修飾された25%のウリジンおよび5-メチルシチジンで修飾された25%のシチジン(s2Uおよび5mC)、プソイドウリジンで完全修飾され(pU)、または1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された(1mpU)。マウスに、100μlの滅菌基礎DMEM培地(添加剤なし、Life Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州)中、2μlのリポフェクタミン2000(Life Technologies、グランドアイランド、ニューヨーク州)と複合された2μgのmRNAの用量を投与した。

【1056】

6時間後、動物を屠殺し、血清および脾臓を収集する。脾臓を6ウェルプレートに移し、1mlのPBSの存在下で、氷に維持した。1つの脾臓をメスで数回切り分け、PBSが細胞の放出によって濁るまで、脾細胞をゴム細胞スクレーパーで絞り出した。

【1057】

線維状成分を残して、細胞を12ウェル細胞培養プレートに位置する100μm細胞ストレーナー(BD Biosciences社、サンノゼ、カリフォルニア州)に移した。重力により細胞を細胞ストレーナーに通し、12ウェル培養皿に下に収集した。1mlのPBSをエッペンドルフチューブに自由に浮遊している脾細胞と共に移動させ、2000rpmで5分間遠心した。PBSを捨て、細胞ペレットを500μlの新鮮なPBSと合わせた。脾細胞を、2000rpmで5分間の短時間ボルテックスすることにより再懸濁した。PBSを捨て、1mlのBD Pharmlyseを細胞ペレットに添加した。脾細胞を短時間のボルテックスによって再懸濁した。細胞を、室温で3分間インキュベートし、次に5分間、200rpmで遠心した。細胞を500μlのPBSで2回洗浄し、上記のように遠心した。細胞を500μlのPBSで再懸濁し、上記のように遠心した。

【1058】

250μlの脾臓細胞を1倍のPharmlyse緩衝液と合わせ、短時間ボルテックスあるいはピペットで再懸濁し、2000rpmで2分間遠心した。

【1059】

1本のチューブ中、哺乳動物細胞(Boston Bioproducts、アッシュランド、マサチューセッツ州)のためのプロテアーゼ阻害剤カクテルで、500μlのRIPA緩衝液中に細胞ペレットを再懸濁し、溶解物を凍結するか、すぐにBCAアッセイを続行する。2番目のチューブ中、250μlのFACS染色キット固定液(4%のホルムアルデヒド、Rand Systems、ミネアポリス、ミネソタ州)を加え、次に室温で10分間インキュベートする。細胞を500μlのPBSで2回洗浄し、上記のように遠心した。細胞ペレットを500μlのPBSに再懸濁し、4℃で保存した。

【1060】

タンパク質溶解物を、1.5mmのすぐに使用できるビストリスゲルを有するNuPage SDS-PAGEシステム(チャンバーと電源)に、助剤としてのMOPS緩衝液と共に4~12%のアクリルアミド勾配に充填した全てLife Technologies社、グランドアイランド、ニューヨーク州)。各溶解物の試料を、最終体積を40μlに調製した。当該試料は、可変体積の25μgのタンパク質溶解物、体積26μl

10

20

30

40

50

を作製するためのR I P A緩衝液、4 μ lの10倍還元剤および10 μ lの4倍のS D Sローディング緩衝液（両方ともL i f e T e c h n o l o g i e s、グランドアイランド、ニューヨーク州）を含有した。試料を5分間95℃で加熱し、ゲルに充填した。メーカーによって、200V、120mAおよび最大25Wの標準設定を選択した。実行時間は60分であったが、色素が移動しゲルの下端に到達する時間を超えることはなかった。

【1061】

実行を終了した後、プラスチックケースを割り、容器に入っていたゲルは、すぐに使用できるニトロセルロース膜キットおよび電源（i B L O T、L i f e T e c h n o l o g i e s、グランドアイランド、ニューヨーク州）に移動した。デフォルト設定を使用して、タンパク質溶解物を、高アンペアの電力によって、ゲルから膜に移した。

10

【1062】

移動後、膜を15分間、1倍のT B S中、5%のB S A中でインキュベートし、次にさらに15分間、1倍のT B S + 0.1%のT w e e n中、5%のB S A中でインキュベートした。グラニューライシンタンパク質に対する一次抗体（グラニューライシンマウスモノクローナル抗体、A b c a m、ケンブリッジ、マサチューセッツ州）を、室温で3時間、1:500~1:2000の希釈の1倍のT B S溶液中、3mlの5% B S Aに適用し、オービタルシェーカーで穏やかに攪拌した。膜を、1倍のT B S / 0.1%のT w e e nで、穏やかに攪拌しながら、5分ずつ3回洗浄する。二次抗体（ロバ抗マウスH R Pコンジュゲート、A b c a m社、ケンブリッジ、マサチューセッツ州）を、西洋ワサビペルオキシダーゼにコンジュゲートし、一次抗体の抗体に結合した。二次抗体を1×T B S中、5% B S Aで、1:1000~1:5000で希釈し、室温で3時間インキュベートした。

20

【1063】

インキュベーション時間の終わりに、膜を、1倍のT B S / 0.1%のT w e e nで穏やかに攪拌しながら、5分ずつ3回洗浄した。指示通りに膜を5mlのピアースW e s t P i c o化学発光S u b t r a t e（サーモフィッシャー、ロックフォード、I L）で展開した。

【1064】

図6Aおよび図6Bに示すように、ウェスタンブロットは、各化学的性質について評価された2つの試料それぞれについて、16kdの予想されるサイズの周りにタンパク質を検出した。

30

【1065】

実施例31. ペプチドの識別の確認

ペプチドの識別を確認するために、定量的L C - 多重反応モニタリング（M R M）を用いて質量分析（L C - M S / M S）と並行して、液体クロマトグラフィー質量分析法を用いてタンパク質を評価することができる。本明細書に記載の任意のタンパク質標的の特定は、定量的L C - 多重反応モニタリング（M R M）アッセイ（B i o g n o s y s A G、スイス）を用いて質量分析（L C - M S / M S）と並行して、液体クロマトグラフィー質量分析法を用いて評価することができる。修飾されたm R N Aから発現されたタンパク質を含有するH e L a細胞溶解物は、細胞溶解物中のペプチドの識別を確認するために定量的L C - M R Mアッセイ（B i o g n o s y s、スイス）を有するL C - M S / M Sを使用して評価される。特定されたペプチド断片は、当該技術分野で周知および／または記載された方法を用いてアイソフォームを含む、既知のタンパク質と比較される。

40

【1066】

A. 試料の準備

溶解緩衝液中の各試料のタンパク質は、5mMのトリス（2-カルボキシエチル）ホスフィン（T C E P）を用いて37℃で1時間インキュベートすることによって還元する。アルキル化は、室温で、暗所で30分間、10mMのヨードアセトアミドを用いて行われる。タンパク質は、プロテアーゼでトリプシン（シーケンスグレード、P r o m e g a C o r p o r a t i o n、マディソン、ウィスコンシン州）を用いてペプチドに消化され、タンパク質比は1:50である。消化は、37℃（合計消化時間は12時間である）で一

50

晩行われる。ペプチドは、製造業者の指示に従ってC18スピンカラム (The Nest Group、サウスボロ、マサチューセッツ州) を使用して質量分析のためにクリーンアップされる。ペプチドを、完全に乾燥させ、LC溶媒A (1%アセトニトリル、0.1%ギ酸 (FA)) に再懸濁する。全ての溶媒は、SIGMA-ALDRICH (登録商標) (セントルイス、ミズーリ州) からのHPLCグレードであり、全ての化学物質は、特に明記しない限り、SIGMA-ALDRICH (登録商標) (セントルイス、ミズーリ州) から得られる。

【1067】

B. LC-MS/MSおよびLC-MRM

ペプチドが、すべての質量分析について、Proxeon Easy nLCナノ液体クロマトグラフィーシステム上で、充填されたC18カラムに注射される (Magic AQ、3 μ mの粒子サイズ、200オングストロームの細孔サイズ、Michrom Bioresources, Inc (オーバーン、カリフォルニア州)、11cmのカラムの長さ、75 μ mの内径、New Objective (マサチューセッツ州))。LC溶媒は、A: 0.1%のFAを含む水中の1%アセトニトリル、B: 0.1%FAを有するアセトニトリル中の3%の水。ショットガン分析のためのLC勾配は、120分で5~35%の溶媒B、次に2分で35~100%の溶媒B、8分間で100%溶媒Bである (総勾配の長さは130分)。ペプチドの検出のために実行されるLC-MS/MSショットガンは、標準的なナノエレクトロスプレー源を装備したThermo Scientific (Thermo Fisher Scientific) (ビレリカ、マサチューセッツ州) Q Exact ive質量分析計で実施される。LC-MRMのためのLC勾配は、30分で5~35%の溶媒B、次に2分で35~100%の溶媒B、8分間で100%溶媒B (総勾配の長さは40分) である。Thermo Scientific (Thermo Fisher Scientific) (ビレリカ、マサチューセッツ州) TSQ Vantageのトリプル四重極質量分析計は、標準的なナノエレクトロスプレー源を装備している。再校正のため予定外のMRMモードでは、遷移ごとに20ミリ秒の滞留時間で運転される。試料間のペプチドの相対的定量のためにTSQ Vantageを4分の取得ウィンドウ長で、スケジュールMRMモードで動作させる。LC溶離液は、1.9 kVでエレクトロスプレーされ、MRM分析は、0.7 DaのQ1ピーク幅を使用して実行される。衝突エネルギーは、ベンダーの仕様に従って線形回帰によってTSQ Vantageについて計算する。

【1068】

C. アッセイのデザイン、データ処理と解析

LC-MRMアッセイの生成のために、LC-MS/MS分析からの12の最も強いフラグメントイオンを、スケジュールLC-MRMモードで測定し、データはMQUEST (登録商標) (Cluete c、カールスルーエ、ドイツ)、mProphetのスコアリング部分を使用して処理した (Reiter r、mProphet: Automated data processing and statistical validation for large-scale SRM experiments, Nature Methods, 2011 (8), 430-435; 内容は参照により本明細書に取り込まれる)。アッセイは手動で検証され、正確なフラグメント強度が決定され、iRT (indexed retention times) がBiognosysのiRTペプチドに対して割り当てられる (Escher r、Using iRT, a normalized retention time for more targeted measurement of peptides, Proteomics, 2012 (12), 1111-1121、内容は参照により本明細書に取り込まれる)。試料の系列に渡るペプチドの相対的定量化のために、各アッセイの8つの最も強い遷移を試料の系列に渡って測定する。データ分析はSpectroDive (商標) を用いて行う (Biognosys、Schlieren、スイス)。総ピーク面積を、選択されたペプチドについて比較し、0.05の偽発見率を適用する。0.05以下のQ値を有するペプチド

を排除し、それぞれの試料中に検出されないと考えられている。

【1069】

実施例32. 確認および化学修飾mRNAからのペプチド識別の確認

siah E3ユビキチンタンパク質リガーゼ1 (SIAH1) 修飾mRNAから製造されるタンパク質含む細胞溶解物 (配列番号6618 (表29)) によって示されるmRNA、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)、MYC阻害剤D (ヒトc-mycを構成する固有のドミナントネガティブな90アミノ酸タンパク質) 修飾mRNA (配列番号6621 (表29)) に示されるmRNA、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)、当該修飾mRNAは、5-メチルシチジンおよびプソイドウリジン (5mCおよびpU) で完全修飾され、5-メチルシチジンと1-メチルプソイドウリジン (5mCおよび1mpU) で完全修飾され、25%のウリジンの場合は2-チオウリジンで修飾され、25%のシチジンの場合は5-メチルシチジンで修飾され (s2Uおよび5mC)、プソイドウリジン (pU) で完全修飾され、または1-メチルプソイドウリジン (1mpU) で完全修飾され、実施例31に記載されるように、手定量的LC-MRMのLC-MS/MSを使用して評価する。評価されたタンパク質について特定されたペプチド断片を、表30に示す。

表30. タンパク質およびペプチド断片配列

【表0030】

	ペプチド断片 の配列番号	5mC および pU	5mC および 1mpU	s2U お よび 5mC	pU	1mpU
SIAH1						
GPLGSIR	6622	あり	-	あり	-	あり
MYC 阻害剤 D						
ATAYILSVQAETQ K	6623	あり	あり	あり	あり	あり
KATAYILSVQAET QK	6624	あり	あり	あり	あり	あり
LISEIDLLRK	6625	あり	あり	あり	あり	あり

【1070】

実施例33. 確認および1-メチルプソイドウリジン修飾mRNAからのペプチド識別の確認

グラニューライシンmRNAから産生されたタンパク質を含有する細胞溶解物 (表29に示すmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1) は1-メチルプソイドウリジン (1mpU) で完全修飾され、実施例31に記載したように定量的LC-MRMのLC-MS/MSを用いて評価した。評価されたタンパク質について同定されたペプチド断片を、表31に示す。表31では、「UniProt ID」は、ペプチド断片配列が、データベース内のすべてのレビュータンパク質に対してブラストしたときに、UniProtのデータベースからのタンパク質識別子を意味する。

表31. タンパク質およびペプチド断片配列

【表 0031】

	ペプチド断片 の配列番号	Uniprot ID
GRANULYSIN		
SCPCLAQEGPQGDLTK	6626	P22749

【1071】

10

実施例 34. 癌の治療における信号センサポリヌクレオチド (HCC) : ドミナントネガティブ STAT3 および Akt mRNA を用いた癌細胞のトランスクリプトームの攪乱

実施例 13 で概説した動物モデルを用いて、動物を、ドミナントネガティブ STAT3 分子またはドミナントネガティブ Akt 分子をコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドで処置し、その発現によって PI-3 キナーゼ誘導発癌性形質転換が妨げられることが示され、神経膠芽腫細胞 (Vogt and Hart, Cancer Discov, 2011 1:481-486; 参照によりその全体が本明細書に含まれる) に含まれる。動物に、ドミナントネガティブ STAT3 mRNA をコードする mRNA 対ドミナントネガティブ Akt mRNA 対負の対照 mRNA (複数の終止コドンを含む同 mRNA の非翻訳版) 対送達および製剤の適切な経路を使用したビヒクルを注射する。次に、動物の遺伝子発現、腫瘍状態、または癌表現型または遺伝子型に関連する特徴のいずれかを評価する。癌のためのドミナントネガティブアプローチの他の例は概説されており、同様に修飾 mRNA と使用することができる (Moss and Lemoine Chapter 15 RNA Interference and Dominant Negative Approaches in Viral Therapy of Cancer Harrington et al., eds. Wiley & Sons、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。

20

【1072】

実施例 35. 癌の治療におけるシグナルセンサーポリヌクレオチド (HCC) : ドミナントネガティブ hTERT mRNA を用いた癌細胞のトランスクリプトームの攪乱

30

実施例 13 で概説した動物モデルを用いて、ドミナントネガティブ hTERT をコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドで動物を処理し、その発現が、テロメラーゼ活性を妨害し、癌細胞のアポトーシスを引き起こすことが示されている (Agrawal ら 2012 Recent Pat Anri cancer Drug Discov 7:102-117, Samy ら 2012 Mol Cancer Ther 11:2384-2393, Nguyen ら 2009 Cell Cycle 8:3227-3233、参照によりその全体が本明細書に含まれる)。特殊な RNA 指向性 DNA ポリメラーゼであるテロメラーゼは、真核生物の染色体の末端にテロメアを拡張し、安定化させる。テロメアの進行性の喪失は、限られた数の細胞分裂をもたらし、ヒト細胞の老化のメカニズムに関連づけられている。不定増殖によって特徴付けられる腫瘍細胞は、テロメラーゼによって維持される安定したテロメアの長さを有している。正常細胞と癌細胞のテロメラーゼ酵素の発現の差は、癌細胞を老化に導くテロメアを不安定にし、短くするために、テロメラーゼ酵素活性を阻害する腫瘍特異的抗テロメラーゼのアプローチの発展につながっている。そのような 1 つのアプローチは、ドミナントネガティブの hTERT を発現するように修飾 mRNA を使用することである。したがって、動物にドミナントネガティブ hTERT の mRNA をコードしている mRNA 対負の対照 mRNA (複数の終止コドンを含む同 mRNA の非翻訳版) 対送達および製剤の適切な経路を用いたビヒクルを注射する。次に、動物の遺伝子発現、腫瘍状態、または癌表現型または遺伝子型に関連する特徴のいずれかを評価する。癌のためのドミナントネガティブアプローチの他の例は概説されて

40

50

おり、同様に修飾mRNAと使用することができる (Moss and Lemoine Chapter 15 RNA Interference and Dominant Negative Approaches in Viral Therapy of Cancer Harringtonら、eds. Wiley & Sons、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。

【1073】

実施例36. 癌の治療におけるシグナルセンサーポリヌクレオチド (HCC) : ドミナントネガティブサバイビンmRNAを用いた癌細胞のトランスクリプトームの攪乱

【1074】

実施例13で概説した動物モデルを用いて、ドミナントネガティブサバイビン (C84 A他) をコードするシグナルセンサーポリヌクレオチドで、動物を処置し、その発現が癌細胞のアポトーシスを引き起こすことが示されている (Cheungら2010 Cancer Cell Int. 10:36、参照によりその全体が本明細書に含まれる)。サバイビンは、多くの異なる癌で広く発現されるアポトーシスの阻害剤 (IAP) ファミリーのメンバーである。サバイビンの過剰発現は、癌細胞の薬物耐性と関連し、化学療法および放射線療法後の患者の生存率を低下させる。サバイビンの機能に拮抗する薬剤は、多くの形態の癌の治療に期待される。そのようなアプローチの1つは、ドミナントネガティブサバイビンを (C84 A変異は記載される例である) を発現するように修飾mRNAを使用することである。したがって、動物に、ドミナントネガティブサバイビンmRNAをコードするmRNA対負の対照mRNA (複数の終止コドンを含む同mRNAの非翻訳版) 対送達および製剤の適切な経路を用いたビヒクルを注射する。次に、動物の遺伝子発現、腫瘍状態、または癌表現型または遺伝子型に関連する特徴のいずれかを評価する。癌のためのドミナントネガティブアプローチの他の例は、概説されており、同様に修飾mRNAと使用することができる (Moss and Lemoine Chapter 15 RNA Interference and Dominant Negative Approaches in Viral Therapy of Cancer Harringtonら、eds. Wiley & Sons、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。

【1075】

実施例37. マイクロRNA結合部位を有する修飾された核酸の発現

ヒト胎児腎臓上皮細胞 (HEK293A)、または単球由来樹状細胞 (MDDC) またはPBMC等の高発現のmiR-142/146を有する細胞または細胞株を示す抗体を、500μlの細胞培養培地 (CelsisのInVivo GRO培地、シカゴ、イリノイ州) を、ウェル当たり200,000密度で播種する。G-CSF mRNA (配列番号6595に示されるmRNA、配列には示されていない少なくとも140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1) miR-142-5pの結合部位を有するG-CSFのmRNA (G-CSFのmiR-142-5p) (cDNA配列は配列番号6627に示され、mRNA配列は配列番号6628に示されている、配列中に示されていない少なくとも140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)、miR-142-5p結合部位から種配列を有するG-CSF mRNA (G-CSF miR-142-5p-seed) (cDNA配列は、配列番号6629に示されている、mRNA配列は、配列番号6630に示されている、配列には示されていない少なくとも140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1) 種配列なしのmiR-142-5p結合部位を有するG-CSF mRNA (G-CSF miR-142-5p-seedless) (cDNA配列は配列番号6631で示される、mRNA配列は配列番号6632で示される、配列中に示されていない少なくとも140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1) miR-142-3p結合部位を有するG-CSF mRNA (G-CSF miR-142-3p) (cDNA配列は、配列番号6633に示されている、mRNA配列は、配列番号6634に示されている、配列には示されていない少なくとも140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)、m

10

20

30

40

50

i R-142-3 p 結合部位から種配列を有する G-C S F mRNA (G-C S F m
 i R-142-3 p-seed) (cDNA 配列は配列番号 6635 で示される、mRNA
 配列は配列番号 6636 で示される、配列中に示されていない少なくとも 140 ヌクレ
 オチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、種配列なしの m i R-142-3 p
 結合部位を有する G-C S F mRNA (G-C S F m i R-142-3 p-seed
 less) (cDNA 配列は配列番号 6637 で示される、mRNA 配列は配列番号 66
 38 で示される、配列中に示されていない少なくとも 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、
 5' キャップ、キャップ 1) m i R-146 a 結合部位を有する G-C S F mRNA (G-C S F m i R-146 a)
 (cDNA 配列は、配列番号 6639 に示されている、
 mRNA 配列は配列番号 6640 に示されている、配列中に示されていない少なくとも 1
 40 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) m i R-146 a 結合部位
 から種配列を有する G-C S F mRNA (G-C S F m i R-146 a-seed)
 (cDNA 配列は、配列番号 6641 に示されている、mRNA 配列は配列番号 6642
 に示されている、配列には示されていない少なくとも 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、
 5' キャップ、キャップ 1) 種配列なしの m i R-146 a 結合部位を有する G-C S F
 mRNA (G-C S F m i R-146 a-seedless) (cDNA 配列は配列
 番号 6643 で示される、mRNA 配列は配列番号 6644 に示されている、配列には示
 されていない少なくとも 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)
 を、24 ウェルプレート中、ウェルあたり 250 ng の濃度で試験する。mRNA 配列を
 、本明細書に記載および／または当該技術分野で周知の様々な化学修飾で評価し、5-メ
 チルシチジンおよびプソイドウリジンで完全修飾され、5-メチルシチジンおよび 1-メ
 チルプソイドウリジンで完全修飾され、プソイドウリジンで完全修飾され、1-メチルプ
 ソイドウリジンで完全修飾され、ウリジン残基の 25% は 2-チオウリジンで修飾され、
 シチジン残基の 25% は 5-メチルシチジンで修飾される。各試料中の G-C S F の発現
 を ELISA によって測定する。

【1076】

前述の m i R 結合部位を有する DNA および mRNA G-C S F 配列を表 32 に示す
 。表では、各配列の開始コドンに下線が引いてある。

表 32. m i R 結合部位を有する G-C S F 構築物

【表 0032-1】

配列番号	記述	配列
6627	T7ポリメ ーラーゼ部 位および制 限部位を有 するDNA 配列 : G-CSF miR-142- 5p	TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGA GCCACCATGGCCGGTCCCGGACCCAAAGCCCCATGAAACT TATGGCCCTGCAGTTGCTGCTTTGGCACTCGGCCCTCTGGA CAGTCCAAGAAGCGACTCCTCTCGACCTGCCTCATCGTTG CCGCAGTCATTCTTTTGAAGTGTCTGGAGCAGGTGCGAAA GATTCAGGGCGATGGAGCCGCACTCCAAGAGAAGCTCTGC GCGACATACAACTTTGCCATCCCGAGGAGCTCGTACTGCT CGGGCACAGCTTGGGGATTCCCTGGGCTCCTCTCTCGTCCT GTCCGTCGCGAGCTTTGCAGTTGGCAGGGTGCCTTTCCCAG CTCCACTCCGGTTTGTCTTGTATCAGGGACTGCTGCAAGC CCTTGAGGGAATCTCGCCAGAATTGGGCCCCGACGCTGGAC ACGTTGCAGCTCGACGTGGCGGATTTGCGAACAACCATCTG GCAGCAGATGGAGGAACTGGGGATGGCACC CGCGCTGCAG CCCACGCAGGGGGCAATGCCGGCCTTTGCGTCCGCGTTTC AGCGCAGGGCGGGTGGAGTCTCTGAGCGAGCCACCTTCA ATCATTTTGGAACTCTCGTACCGGGTGTGAGACATCTTG CGCAGCCGTGATAATAGGCTGCCTTCTCGGGGGCTTGCTT CTGGCCATGCCCTTCTTCTCTCCCTTGACCTGTACCTCTAG TAGTGCTTTCTACTTTATGTGGTCTTGAATAAAGCCTGAGT AGGAAAGCGGCCGCTCGAGCATGCATCTAGA
6628	mRNA配 列: G-CSF miR-142- 5p	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAA GAGCCACCAUGGCCGGUCCCGGACCCAAAGCCCCAUGAA ACUUAUGGCCCUGCAGUUGCUGCUUUGGCACUCGGCCC UCUGGACAGUCCAAGAAGCGACUCCUCUCGGACCUGCCU CAUCGUUGCCGCAGUCAUUCUUUUUGAAGUGUCUGGAG CAGGUGCGAAAGAUUCAGGGCGAUGGAGCCGCACUCCAA GAGAAACUCUCGCGGACAUACAAACUUUGCCAUCCCGAG GAGCUCGUACUGCUCGGGCACAGCUUGGGGAUUCUCCUGG GCUCCUCUCUCGUCCUGUCCGUCGCGAGGCUUUGCAGUU GGCAGGUGCCUUUCCAGCUCCACUCCGGUUUUGUUCU UGUAUCAGGGACUGCUGCAAGCCCUUGAGGGAAUCUCGC CAGAAUUGGGCCCGACGCUUGGACACGUUGCAGCUCGACG UGGCGGAUUUCGCAACAACCAUCUGGCAGCAGAUUGGAGG AACUGGGGAUGGCACCCGCGCUGCAGCCACCGCAGGGGG CAAUGCCGGCCUUUGCGUCCGCGUUUCAGCGCAGGGCGG GUGGAGUCCUCGUAGCGAGCCACCUCAAUCAUUUUUG GAAUCUCGUACCGGGUGCUGAGACAUCUUGCGAGCCG UGAUAAUAGGCUGCCUUCUGCGGGGCUUGCCUUCUGGC CAUGCCCUUCUUCUCUCCCUUGCACCUGUACCUCUAGUA GUGCUUUCUACUUUAUGUGGUCUUUGAAUAAAGCCUGA GUAGGAAG

10

20

30

【表 0032-2】

6629	T7ポリメ ラーゼ部 位および制 限部位を有 するDNA 配列 : G-CSF miR-142- 5p-seed	TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGA GCCACCATGGCCGGTCCCGCGACCCAAAGCCCCATGAAACT TATGGCCCTGCAGTTGCTGCTTTGGCACTCGGCCCTCTGGA CAGTCCAAGAAAGCGACTCCTCTCGGACCTGCCTCATCGTTG CCGCAGTCATTCTTTTGAAGTGTCTGGAGCAGGTGCGAAA GATTGAGGGCGATGGAGCCGCACTCCAAGAGAAGCTCTGC GCGACATACAACTTTGCCATCCCAGGAGCTCGTACTGCT CGGGCACAGCTTGGGGATTCCCTGGGCTCCTCTCTCGTCTCT GTCCGTGCGAGGCTTTGCAGTTGGCAGGGTGCCTTTCCAG CTCCACTCCGTTTGTCTTGTATCAGGGAAGTGTGCAAGC CCTTGAGGGAATCTCGCCAGAATTGGGCCCCGACGCTGGAC ACGTTGCAGCTCGACGTGGCGGATTTGCAACAACCATCTG GCAGCAGATGGAGGAACTGGGGATGGCACCCGCGCTGCAG CCCACGCAGGGGGCAATGCCGGCCTTTGCGTCCGCGTTTC AGCGCAGGGCGGGTGGAGTCCTCGTAGCGAGCCACCTTCA ATCATTTTTTGAAGTCTCGTACCGGGTGTGAGACATCTTG CGCAGCCGTGATAATAGGCTGCCTTCTGCGGGGCTTGCCTT CTGGCCATGCCCTTCTCTCTCCCTTGCACCTGTACCTCTAC TTTATTGGTCTTTGAATAAAGCCTGAGTAGGAAGGCGGCCG CTCGAGCATGCATCTAGA
6630	mRNA配 列: G-CSF miR-142- 5p-seed	GGGAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAUAUAA GAGCCACC AUGGCCGGUCCCGCGACCCAAAGCCCCAUGAAACUUAUG GCCCUGCAGUUGCUGCUUUGGCACUCGGCCUCUGGACA GUCCAAGAAGCGACUCCUCUCGACCGCCUCAUCGUUG CCGCAGUCAUUCUUAUGAAGUGUCUGGAGCAGGUGCG AAAGAUUCAGGGCGAUGGAGCCGCACUCCAAGAGAAGCU CUGCGCGACAUACAAACUUAUGCAUCCCGAGGAGCUCGU ACUGCUCGGGCACAGCUUUGGGGAUUCUUGGGCUCCUCU CUCGUCCUGUCCGUCGACGGCUUUGCAGUUGGCAGGGU GCCUUUCCCGAGCUCCACUCCGGUUAUGUUCUUGUAUCAG GGACUGCUGCAAGCCCUUGAGGGAAUCUCGCCAGAAUUG GGCCCGACGCUUGACACGUUGCAGCUCGACGUGGCGGAU UUCGCAACAACCAUCUGGCAGCAGAUGGAGGAACUGGGG AUGGCACCCGCGCUGCAGCCACGCAGGGGGCAAUGCCG GCCUUUGCGUCCGCGUUAUGAGCGCAGGGCGGGUGGAGU CCUCGUAGCGAGCCACCUCAAUCAUUUUGGAAGUCUC GUACCGGGUGCUGAGACAUCUUGCGCAGCCG UGAUAAUAGGCUGCCUUCUGCGGGGCUUGCCUUCUGGC CAUGCCCUUCUUCUCUCCCUUGCACCUGUACCUCUACUU UAUUGGUCUUUGAAUAAAGCCUGAGUAGGAAG
6631	T7ポリメ ラーゼ部	TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGA

10

20

30

【表 0032-3】

	位および制限部位を有するDNA配列: G-CSF miR-142-5p- seedless	GCCACCATGGCCGGTCCCGCGACCCAAAGCCCCATGAAACT TATGGCCCTGCAGTTGCTGCTTTGGCACTCGGCCCTCTGGA CAGTCCAAGAAGCGACTCCTCTCGGACCTGCCTCATCGTTG CCGCAGTCATTCTTTTGAAGTGTCTGGAGCAGGTGCGAAA GATTCAGGGCGATGGAGCCGCACTCCAAGAGAAAGCTCTGC GCGACATACAAACTTTGCCATCCCGAGGAGCTCGTACTGCT CGGGCACAGCTTGGGGATTCCCTGGGCTCCTCTCTCGTCCT GTCCGTCGCGAGCTTTGCAGTTGGCAGGGTGCCTTTCCCAG CTCCACTCCGGTTTGTCTTGTATCAGGGAAGTGTGCAAGC CCTTGAGGGAATCTCGCCAGAATTGGGCCCCGACGCTGGAC ACGTTGCAGCTCGACGTGGCGGATTTGCAACAACCATCTG GCAGCAGATGGAGGAACTGGGGATGGCACCCGCGCTGCAG CCACGCGAGGGGCAATGCCGGCCTTTGCGTCCGCGTTTC AGCGCAGGGCGGGTGAGTCTCTGTAAGCGAGCCACCTTCA ATCATTTTTGAAGTCTCGTACCGGGTGTCTGAGACATCTTG CGCAGCCGTGATAATAGGCTGCCTTCTGCGGGGCTTGCCTT CTGGCCATGCCCTTCTTCTCTCCCTTGACCTGTACCTCTAG TAGTGCTTTCTGTGGTCTTTGAATAAAGCCTGAGTAGGAAG GCGGCCGCTCGAGCATGCATCTAGA
6632	mRNA配列: G-CSF miR-142-5p- seedless	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAA GAGCCACC AUGGCCGUGUCCCGCGACCCAAAGCCCCAUGAAACUUAUG GCCUGCAGUUGCUGCUUUGGCACUCGGCCCUUGGACA GUCCAAGAAGCGACUCCUCUCGGACCUCCUCAUCGUUG CCGCAGUCAUCCUUUGAAGUGUCUGGAGCAGGUGCG AAAGAUUCAGGGCGAUGGAGCCGCACUCCAAGAGAAGCU CUGCGCGACAUACAAACUUUGCCAUCCCGAGGAGCUCGU ACUGCUCGGGCACAGCUUUGGGGAUUCCCUUGGGCUCCUCU CUCGUCCUGUCCGUCGACGGCUUUGCAGUUGGCAGGGU GCCUUUCCAGCUCCACUCCGGUUUGUUCUUGUAUCAG GGACUGCUGCAAGCCCUUGAGGGAAUCUCGCCAGAAUUG GGCCCGACGCUUGGACACGUUGCAGCUCGACGUGGCGGAU UUCGCAACAACCAUCUGGCAGCAGAUUGGAGGAACUGGGG AUGGCACCCGCGCUGCAGCCACGCAGGGGGCAAUGCCG GCCUUUGCGUCCGCGUUUCAGCGCAGGGCGGGUGGAGU CCUCGUAGCGAGCCACCUUCAAUAAUUUUGGAAGUCUC GUACCGGGUGCUGAGACAUCUUGCGCAGCCG UGAUAAUAGGCUGCCUUCUGCGGGGCUUGCCUUCUGGC CAUGCCCUUCUUCUCCCCUUGCACCUGUACCUCUAGUA GUGC UUUCUGUGGUCUUUGAAUAAAGCCUGAGUAGGAA G
6633	T7ポリメラーゼ部位および制	TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGA GCCACCATGGCCGGTCCCGCGACCCAAAGCCCCATGAAACT

10

20

30

【表 0032-4】

	限部位を有するDNA配列: G-CSF miR-142-3p	TATGGCCCTGCAGTTGCTGCTTTGGCACTCGGCCCTCTGGA CAGTCCAAGAAGCGACTCCTCTCGGACCTGCCTCATCGTTG CCGCAGTCATTCTTTTGAAGTGTCTGGAGCAGGTGCGAAA GATTGAGGGCGATGGAGCCGCACTCCAAGAGAAGCTCTGC GCGACATACAACTTTGCCATCCCAGGAGCTCGTACTGCT CGGGCACAGCTTGGGGATTCCCTGGGCTCCTCTCTCTCCT GTCCGTCGCAGGCTTTGCAGTTGGCAGGGTGCCTTTCCAG CTCCACTCCGTTTGTCTTGTATCAGGACTGCTGCAAGC CCTTGAGGGAATCTCGCCAGAATTGGGCCCCGACGCTGGAC ACGTTGCAGCTCGACGTGGCGGATTTCGCAACAACCATCTG GCAGCAGATGGAGGAACTGGGGATGGCACCCGCGCTGCAG CCCACGCAGGGGGCAATGCCGGCCTTTGCGTCCGCGTTTC AGCGCAGGGCGGGTGGAGTCTCTGAGCGAGCCACCTTCA ATCATTTTGGAACTCTCGTACCGGGTGCTGAGACATCTTG CGCAGCCGTGATAATAGGCTGCCTTCTGCGGGCTTGCCCT CTGCCATGCCCTTCTCTCTCCCTTGACCTGTACCTCTTC CATAAAGTAGGAAACACTACATGGTCTTTGAATAAAGCCTG AGTAGGAAGGCGCCGCTCGAGCATGCATCTAGA
6634	mRNA配列: G-CSF miR-142-3p	GGGAAAUAAAGAGAGAAAAGAGAGUAAAGAAAUAAUAA GAGCCACC AUGGCCGGUCCCGCGACCCAAAGCCCCAUGAAACUUAUG GCCUGCAGUUGCUGCUUUGGCACUCGGCCCUUGGACA GUCCAAGAAGCGACUCCUCUCGACCGCCUCAUCGUUG CCGCAGUCAUUCUUAUGAAGUGUCUGGAGCAGGUGCG AAAGAUUCAGGGCGAUGGAGCCGACUCCAAGAGAAGCU CUGCGGACAUACAAACUUGCCAUCCCGAGGAGCUCGU ACUGCUCGGGCACAGCUUUGGGGAUUCUCCUGGGCUCCUCU CUCGUCCUGUCCGUCGACGGCUUUGCAGUUGGCAGGGU GCCUUUCCCGAGCUCCACUCCGUUUGUUCUUGUAUCAG GGACUGCUGCAAGCCCUUGAGGGAAUCUCGCCAGAAUUG GGCCCGACGCGUGGACACGUUGCAGCUCGACGUGGCGGAU UUCGCAACAACCAUCUGGCAGCAGAUGGAGGAACUGGGG AUGGCACCCGCGCUGCAGCCACGCAGGGGGCAAUGCCG GCCUUUGCGUCCGCGUUCAGCGCAGGGCGGGUGGAGU CCUCGUAGCGAGCCACCUUCAAUUUUUGGAAGUCUC GUACCGGGUGCUGAGACAUCUUGCGCAGCCG UGAUAAUAGGCUGCCUUCUGCGGGGCUUGCCUUCUGGC CAUGCCCUUCUUCUCUCCCUUGCACCUGUACCUCUCCA UAAAGUAGGAAACACUACAUGGUCUUUGAAUAAAGCCUG AGUAGGAAG
6635	T7ポリメ ラーゼ部 位および制 限部位を有	TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAGAGAGTAAGAAGAAATATAAGA GCCACCATGGCCGGTCCCGCGACCCAAAGCCCCATGAAACT TATGGCCCTGCAGTTGCTGCTTTGGCACTCGGCCCTCTGGA

10

20

30

【表 0032-5】

	するDNA 配列 : G-CSF miR-142- 3p-seed	CAGTCCAAGAAGCGACTCCTCTCGGACCTGCCTCATCGTTG CCGCAGTCATTCTTTTGAAGTGTCTGGAGCAGGTGCGAAA GATTCAGGGCGATGGAGCCGCACTCCAAGAGAAGCTCTGC GCGACATACAACTTTGCCATCCCAGGAGCTCGTACTGCT CGGGCACAGCTTGGGGATTCCCTGGGCTCCTCTCTCGTCCT GTCCGTGCGCAGGCTTTGCAGTTGGCAGGGTGCCTTTCCCAG CTCCACTCCGGTTTGTCTTGTATCAGGACTGCTGCAAGC CCTTGAGGGAATCTCGCCAGAATTGGGCCCCGACGCTGGAC ACGTTGCAGCTCGACGTGGCGGATTTGCAACAACCATCTG GCAGCAGATGGAGGAACTGGGGATGGCACCCGCGCTGCAG CCCACGCAGGGGGCAATGCCGGCCTTTGCGTCCGCGTTTC AGCGCAGGGCGGGTGAGTCCTCGTAGCGAGCCACCTTCA ATCATTTTGGAACTCTCGTACCGGGTGCTGAGACATCTTG CGCAGCCGTGATAATAGGCTGCCTTCTCGGGGCTTGCCCT CTGGCCATGCCCTTCTTCTCTCCCTTGACCTGTACCTCTAC ACTACTGGTCTTTGAATAAAGCCTGAGTAGGAAGGCGGCCG CTCGAGCATGCATCTAGA
6636	mRNA配 列: G-CSF miR-142- 3p-seed	GGGAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAUAUAA GAGCCACC AUGGCCGGUCCCCGCGACCCAAAGCCCCAUGAAACUUAUG GCCUGCAGUUGCUGCUUUGGCACUCGGCCCCUCUGGACA GUCCAAGAAGCGACUCCUCUGGACCUGCCUCAUGGUUG CCGAGUCAUCCUUUUGAAGUGUCUGGAGCAGGUGCG AAAGAUUCAGGGCGAUGGAGCCGCACUCCAAGAGAAGCU CUGCGCGACAUAACAAACUUUGCCAUCCCGAGGAGCUCGU ACUGCUCGGGCACAGCUUGGGGAUUCUUUGGGCUCUUCU CUCGUCCUGUCCGUCGACGGCUUUGCAGUUGGCAGGGU GCCUUUCCAGCUCACUCCGGUUUGUUCUUGUAUCAG GGACUGCUGCAAGCCCUUGAGGGAAUCUCGCCAGAAUUG GGCCGACGCUUGACACGUUGCAGCUCGACGUGGCGGAU UUCGCAACAACCAUCUGGCAGCAGAUGGAGGAACUGGGG AUGGCACCCGCGCUGCAGCCACGCAGGGGGCAAUGCCG GCCUUUGCGUCCGCGUUUCAGCGCAGGGCGGGUGGAGU CCUCGUAGCGAGCCACCUUCAUUAUUUGGAAGUCUC GUACCGGGUGCUGAGACAUCUUGCGCAGCCG UGAUAAUAGGCGUCCUUCUGCGGGGCUUGCCUUCUGGC CAUGCCCUUCUUCUCUCCCUUGCACCUGUACCUCUACAC UACUGGUCUUUGAAUAAAGCCUGAGUAGGAAG
6637	T7ポリメ ラーゼ部 位および制 限部位を有 するDNA 配列	TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGA GCCACCATGGCCGGTCCCGCGACCCAAAGCCCATGAACT TATGGCCCTGCAGTTGCTGCTTTGGCACTCGGCCCTCTGGA CAGTCCAAGAAGCGACTCCTCTCGGACCTGCCTCATCGTTG CCGCAGTCATTCTTTTGAAGTGTCTGGAGCAGGTGCGAAA

10

20

30

【表 0 0 3 2 - 6】

	: G-CSF miR-142- 3p- seedless	GATTcAGGGCGATGGAGCCGCACTCCAAGAGAAGCTCTGC GCGACATACAAACTTTGCCATCCCGAGGAGCTCGTACTGCT CGGGCACAGCTTGGGGATTCCCTGGGCTCCTCTCTCGTCCT GTCCGTCCGAGGCTTTGCAGTTGGCAGGGTGCCTTTCCCAG CTCCACTCCGTTTGTCTTGTATCAGGGAAGTGTGCAAGC CCTTGAGGGAATCTCGCCAGAATTGGGCCCCGAGCTGGAC ACGTTGCAGCTCGACGTGGCGGATTTGCAACAACCATCTG GCAGCAGATGGAGGAACTGGGGATGGCACCCGCGCTGCAG CCCCAGCGGGGCAATGCCGGCCTTTGCGTCCGCGTTTC AGCGCAGGGCGGGTGGAGTCTCTGTAGCGAGCCACCTTCA ATCATTTTTGAAGTCTCGTACCGGGTGTGAGACATCTTG CGCAGCCGTGATAATAGGCTGCCTTCTGCGGGGCTTGCTT CTGGCCATGCCCTTCTCTCTCCCTTGACCTGTACCTCTTC CATAAAGTAGGAAATGCTCTTTGAATAAAGCCTGAGTAGGA AGCGCGCCGCTCGAGCATGCATCTAGA
6638	mRNA配 列: G-CSF miR-142- 3p- seedless	GGGAAAUAAGAGAGAAAAAGAGAGUAAAGAAUUAUAA GAGCCACCAUGGCCGGUCCCGCGACCCAAAGCCCCAUGAA ACUUAUGGCCCUGCAGUUGCUGCUUUGGCACUCGGCCC UCUGGACAGUCCAAGAAGCGACUCCUCUCGGACCGCCU CAUCGUUGCCCGCAGUCAUUCUUUUGAAGUGUCUGGAG CAGGUGCGAAAGAUUCAGGGCGAUGGAGCCGCACUCCAA GAGAAGCUCUGCGCGACAUAACAACUUUGCAUCCCGAG GAGCUCGUACUGCUCGGGCACAGCUUUGGGGAUUCUCCUG GCUCUCUCUCGUCUCGUCGUCGAGGCUUUGCAGUU GGCAGGGUGCCUUUCCAGCUCACUCCGGUUUGUUCU UGUAUCAGGGACUGCUGCAAGCCUUGAGGGAAUCUCGC CAGAAUUGGGCCCAGCGUGGACACGUUGCAGCUCGACG UGGCGGAUUUCGCAACAACCAUCUGGCAGCAGAUUGGAGG AACUGGGGAUGGCACCCGCGCUGCAGCCACGCAGGGGG CAAUGCCGGCCUUUGCGUCCCGGUUUCAGCGCAGGGCGG GUGGAGUCCUCGUAGCGAGCCACCUCAAUCAUUUUUG GAAGUCUCGUACCGGGUGCUGAGACAUCUUGCGCAGCCG UGAUAAUAGGCUGCCUUCUGCGGGGCUUGCCUUCUGGC CAUGCCCUUCUUCUCUCCCUUGCACCUGUACCUCUCCA UAAAGUAGGAAAUGGUCUUUGAAUAAAGCCUGAGUAGGA AG
6639	T7ポリメ ラーゼ部 位および制 限部位を有 するDNA 配列 : G-CSF	TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAAGAGAGTAAGAAGAAATATAAGA GCCACCATGGCCGGTCCCGCGACCCAAAGCCCCATGAACT TATGGCCCTGCAGTTGCTGCTTTGGCACTCGGCCCTCTGGA CAGTCCAAGAAGCGACTCCTCTCGACCTGCCTCATCGTTG CCGCAGTCATTCTTTTGAAGTGTCTGGAGCAGGTGCGAAA GATTcAGGGCGATGGAGCCGCACTCCAAGAGAAGCTCTGC GCGACATACAAACTTTGCCATCCCGAGGAGCTCGTACTGCT

10

20

30

【表 0 0 3 2 - 7】

	miR-146a	CGGGCACAGCTTGGGGATTCCCTGGGCTCCTCTCTCGTCCT GTCCGTCGCAGGCTTTGCAGTTGGCAGGGTGCCTTTCCCAG CTCCACTCCGTTTGTCTTGTATCAGGGAAGTCTGCAAGC CCTTGAGGGAATCTCGCCAGAATTGGGCCCCGACGCTGGAC ACGTTGCAGCTCGACGTGGCGGATTTCGCAACAACCATCTG GCAGCAGATGGAGGAACTGGGGATGGCACCCGCGCTGCAG CCCACGCAGGGGGCAATGCCGGCCTTTGCGTCCGCGTTTC AGCGCAGGGCGGTGGAGTCTCTGACGAGGCCACCTTCA ATCATTTTTGGAAGTCTCGTACCGGGTGCTGAGACATCTTG CGCAGCCGTGATAATAGGCTGCCTTCTGCGGGGCTTGCCTT CTGGCCATGCCCTTCTTCTCTCCCTTGACCTGTACCTCTAA CCCATGGAATTGAGTTCTCATGGTCTTTGAATAAAGCCTGA GTAGGAAGGCGCGCGCTCGAGCATGCATCTAGA
6640	mRNA配 列: G-CSF miR-146a	GGGAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAUAUAA GAGCCACCAUGGCCGUGCCCGGACCCAAAGCCCCAUGAA ACUUAUGGCCCUGCAGUUGCUGCUUUGGCACUCGGCCC UCUGGACAGUCCAAGAAGCGACUCCUCUCGGACCUGCCU CAUCGUUGCCGCGAGUCAUUCUUUUUAGUGUCUGGAG CAGGUGCGAAAGAUUCAGGGCGAUGGAGCCGCACUCCAA GAGAAGCUCUGCGCGACAUAACAACUUUGCCAUCCCGAG GAGCUCGUACUGCUCGGGCACAGCUUGGGGAUUCUCCUG GCUCCUCUCUGUCCUGUCCGUCGCGAGGCUUUGCAGUU GGCAGGUGCCUUUCCAGCUCACUCCGCUUUGUUCU UGUAUCAGGGACUGCUGCAAGCCUUGAGGGAAUCUCGC CAGAAUUGGGCCCAGCGUGGACAGUUGCAGCUCGACG UGGCGGAUUUCGCAACAACCAUCUGGCAGCAGAUUGGAGG AACUGGGGAUGGCACCCGCGCUGCAGCCCACGAGGGGG CAAUGCCGGCCUUUGCGUCCGCGUUUCAGCGCAGGGCGG GUGGAGUCCUCGUAGCGAGCCACCUCAAUCAUUUUUG GAAGUCUCGUACCGGGUGCUGAGACAUCUUGCGCAGCCG UGAUAUAAGGCGUCCUUCUGCGGGGCUUGCCUUCUGGC CAUGCCCUUCUUCUCUCCCUUGCACCUGUACCUCUAACC CAUGGAAUUCAGUUCUCAUGGUCUUUGAAUAAAGCCUGA GUAGGAAG
6641	T7ポリメ ーラーゼ部 位および制 限部位を有 するDNA 配列 : G-CSF- 146a-seed	TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGA GCCACCATGGCCGTTCCCGCGACCCAAAGCCCCATGAAACT TATGGCCCTGCAGTTGCTGCTTTGGCACTCGGCCCTCTGGA CAGTCCAAGAAGCGACTCCTCTCGACCTGCCTCATCGTTG CCGCAGTCATTCTTTGAAGTGTCTGGAGCAGGTGCCAAA GATTGAGGGCGATGGAGCCGCACTCCAAGAGAAGCTCTGC GCGACATACAACTTTGCCATCCCGAGGAGCTCGTACTGCT CGGGCACAGCTTGGGGATTCCCTGGGCTCCTCTCTCGTCCT GTCCGTCGCAGGCTTTGCAGTTGGCAGGGTGCCTTTCCCAG

10

20

30

【表 0032-8】

		CTCCACTCCGTTTGTTCCTGTATCAGGGAAGTCTGCAAGC CCTTGAGGGAATCTCGCCAGAATTGGGCCCCGACGCTGGAC ACGTTGCAGCTCGACGTGGCGGATTCGCAACAACCATCTG GCAGCAGATGGAGGAAGTGGGGATGGCAGCCGCGCTGCAG CCCACGCAGGGGGCAATGCCGGCCTTTGCGTCCGCGTTTC AGCGCAGGGCGGGTGAGTCTCGTAGCGAGCCACCTTCA ATCATTTTTGGAGTCTCGTACCGGGTGTGAGACATCTTG CGCAGCCGTGATAATAGGCTGCCTTCTCGGGGGCTTGCCTT CTGGCCATGCCCTTCTTCTCTCCCTTGACCTGTACCTCTAG TTCTCTGGTCTTTGAATAAAGCCTGAGTAGGAAGGCGGCCG CTCGAGCATGCATCTAGA
6642	mRNA配 列: G-CSF- 146a-seed	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAUAA GAGCCACCAUGGCCGGUCCCGCGACCCAAAGCCCCAUGAA ACUUAUGCCCCUGCAGUUGCUGCUUUUGGCACUCGGCCC UCUGGACAGUCCAAGAAGCGACUCCUCUCGGACCGCCU CAUCGUUGCCGCGAGUCAUUCUUUUUGAAGUGUCUGGAG CAGGUGCGAAAGAUUCAGGGCGAUGGAGCCGCACUCCAA GAGAAACUCUGCGCGCAUACAAACUUUGCAUCCCGAG GAGCUCGUACUCUCGCGGCACAGCUUGGGGAUUCUCCUGG GCUCCUCUCUCGUCCUGUCCGUCGAGGCUUUGCAGUU GGCAGGGUGCCUUUCCAGCUCACUCCGGUUUGUUCU UGUAUCAGGGACUGCUGCAAGCCCUUGAGGGAAUCUCGC CAGAAUUGGGCCCGACGUGGACAGUUGCAGCUCGACG UGGCGGAUUUCGCAACAACCAUCUGGCAGCAGAUGGAGG AACUGGGGAUGGCACCCGCGCUGCAGCCACGCAGGGGG CAAUGCCGGCCUUUGCGUCCGCGUUUCAGCGCAGGGCGG GUGGAGUCCUCGUAGCGAGCCACCUCAAUCAUUUUUG GAAGUCUCGUACCGGGUGCUGAGACAUCUUGCGCAGCCG UGAUAUAGGCUGCCUUCUGCGGGGCUUGCCUUCUGGC CAUGCCCUUCUUCUCUCCCUUGCACCUGUACCUCUAGUU CUCUGGUCUUUGAAUAAAGCCUGAGUAGGAAG
6643	T7ポリメ ラーゼ部 位および制 限部位を有 するDNA 配列 : G-CSF- 146a- seedless	TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAGA GCCACCATGGCCGGTCCCGCGACCCAAAGCCCATGAAACT TATGGCCCTGCAGTTGCTGCTTTGGCACTCGGCCCTCTGGA CAGTCCAAGAAGCGACTCCTCTCGGACCTGCCTCATCGTTG CCGCAGTCATTCTTTTGAAGTGTCTGGAGCAGGTGCGAAA GATTGAGGGCGATGGAGCCGCACTCCAAGAGAAGCTCTGC GCGACATACAACTTTGCCATCCCGAGGAGCTCGTACTGCT CGGGCACAGCTTGGGGATTCCCTGGGCTCCTCTCTCGTCCT GTCCGTGCGAGGCTTTGCAGTTGGCAGGGTGCCTTTCCAG CTCCACTCCGTTTGTTCCTGTATCAGGGAAGTCTGCAAGC CCTTGAGGGAATCTCGCCAGAATTGGGCCCCGACGCTGGAC ACGTTGCAGCTCGACGTGGCGGATTCGCAACAACCATCTG

10

20

30

【表 0032-9】

		GCAGCAGATGGAGGAACTGGGGATGGCACCCGCGCTGCAG CCCACGCAGGGGGCAATGCCGGCCTTTGCGTCCGCGTTTC ACGCGCAGGGCGGTGGAGTCCTCGTAGCGAGCCACCTTCA ATCATTTTGGAAAGTCTCGTACCGGGTGCTGAGACATCTTG CGCAGCCGTGATAATAGGCTGCCTTCTGCGGGGCTTGCCTT CTGGCCATGCCCTTCTTCTCTCCCTTGACCTGTACCTCTAA CCCATGGAATTCATGGTCTTTGAATAAAGCCTGAGTAGGAA GGCGGCCGCTCGAGCATGCATCTAGA
6644	mRNA配 列: G-CSF- 146a- seedless	GGGAAAUAGAGAGAAAAAGAGUAAGAAGAAAUUAA GAGCCACCAUGGCCGGUCCCGCGACCCAAAGCCCAUGAA ACUUAUGGCCCUGCAGUUGCUGCUUUGGCACUCGGCCC UCUGGACAGUCCAAGAAGCGACUCCUCUCGGACCUGCCU CAUCGUUGCCGAGUCAUUCUUUUGAAGUGUCUGGAG CAGGUGCGAAAGAUUCAGGGCGAUGGAGCCGCACUCCAA GAGAAAGCUCUGCGCGACAUACAAACUUUGCCAUCCCGAG GAGCUCGUACUGCUCGGGCGACAGCUUGGGGAUUCUCCUGG GCUCUCUCUCUGCCUGUCCGUCGCGAGGCUUUGCAGUU GGCAGGGUGCCUUUCCCGAGCUCACUCCGGUUUGUUCU UGUAUCAGGGACUGCUGCAAGCCUUGAGGGAAUCUCGC CAGAAUUGGCCCCGACGUGGACAGUUGCAGCUCGACG UGGCGGAUUUCGCAACAACCAUCUGGCAGCAGAUUGGAGG AACUGGGGAUGGCACCCGCGCUGCAGCCACGCAGGGGG CAAUGCCGGCCUUUGCGUCCGCGUUUCAGCGCAGGGCGG GUGGAGUCCUCGUAGCGAGCCACCUUCAUUAUUUUUG GAAGUCUCGUACCGGGUGCUGAGACAUUCUUGCGAGCCG UGAUAUAGGCGUGCCUUCUGCGGGGCUUGCCUUCUGGC CAUGCCCUUCUUCUCUCCCUUGCACCUGUACCUCUAACC CAUGGAAUUCAGGUCUUUGAAUAAAGCCUGAGUAGGAA G

10

20

【1077】

結合部位「種」配列はmiRNA結合を誘導するのに十分であるようであり、G-C-S-Fの発現は、miR-142-3p、miR-142-3p-seed、miR-142-5p、miR-142-5p-seed、miR-146aまたはmiR-146a-seedを形質移入された細胞で下方制御されるはずである。一方、miR-142-3p-seedless、miR-142-5p-seedless、miR-146a-seedlessは、マイクロRNA結合部位のないG-C-S-F mRNAを形質移入された細胞と比較して、G-C-S-Fの発現を変化させないはずである。

30

【1078】

実施例38. 修飾された核酸媒介免疫刺激を抑制するためのAPC特異的マイクロRNA結合部位

マイクロRNAの結合部位をmRNA治療薬の3'UTRに使用し、選択的に免疫細胞のmRNA治療薬を分解し、mRNA治療薬の送達によって引き起こされる望ましくない免疫原性反応を抑える。

【1079】

抗原提示細胞（APC）でシグナルセンサーポリヌクレオチドをより不安定にする一連の3'UTR miR部位を含むシグナルセンサーポリヌクレオチド、例えば、限定されないが、miR-142-5p、miR-142-3p、miR-146a-5pおよびmiR-146a-3pは、本発明の腫瘍関連ポリペプチドをコードする。シグナルセンサーポリヌクレオチドを不安定にする3'UTRのmiR結合部位の追加は、修飾mRNA媒介免疫刺激を抑えるであろう。

40

【1080】

APC特異的マイクロRNAシグネチャー対当該シグネチャーを持たないものとのシグナルセンサーポリペプチドによって誘導されるサイトカイン発現（例えば、TNF-α）の比較実験を、本明細書に記載および／または当技術分野で周知の方法によりin vi

50

t r oで実施する。

【1081】

実施例39. m i R結合部位を有するm R N Aの i n v i t r o発現

ヒト胎児腎臓上皮細胞 (H E K 2 9 3 A)、高発現のm i r - 1 4 6 / 1 4 2を有する提示細胞または細胞株、例えば、単球由来樹状細胞 (M D D C) またはP B M Cを、5 0 0 μ lの細胞培養培地中、ウェルあたり2 0 0, 0 0 0密度で播種する (C e l s i sのI n V i t r o G R O培地、シカゴ、イリノイ州)。実施例37に記載したように、培養細胞を、マイクロRNAシグネチャーのある場合とない場合とで、G - C S F m R N Aを形質移入する。細胞は、5日間連続して形質移入される。形質移入複合体を、形質移入の各ラウンドから4時間後に除去する。

10

【1082】

培養上清を、分泌G - C S F (R & D S y s t e m s、カタログ番号D C S 5 0)、腫瘍壊死因子α (T N F - α) およびインターフェロンα (形質移入し、製造業者のプロトコルの後に毎日E L I S AによるI F N - α) についてアッセイする。形質移入の最初のラウンドから6時間および18時間後、その後の隔日にC E L L T I T E R G L O (登録商標) (P r o m e g a、カタログ番号G 7 5 7 0) を使用して生存率について、細胞を分析する。回収した細胞から同時に、全てのRNAを単離し、製造業者のプロトコルに従ってRNA E A S Yマイクロキット (カタログ番号7 4 0 0 4) を使用してDNA S E (登録商標) で処理する。1 0 0 n gの総RNAを、製造業者のプロトコルに従って、大容量のc DNA逆転写キット (A p p l i e d B i o s y s t e m s、カタログ番号4 3 6 8 8 1 4) を用いてc DNA合成のために使用する。その後、製造業者のプロトコルに従ってB i o r a d C F X 3 8 4機器でS y b r G r e e nを用いた定量的リアルタイムPCRによって先天免疫応答遺伝子の発現について、c DNAを分析する。

20

【1083】

実施例40. 先天性免疫応答の試験の i n v i v o検出

シグナルセンサータンパク質発現および i n v i v o免疫反応を試験するために、雌のB A L B / cマウス (n = 5) を実施例37に記載したようにマイクロRNAシグネチャーのある場合とない場合で、G - C S F m R N Aを筋肉内に注射する。血液を投与から8時間後に回収する。G - C S F、T N F - αおよびI F N - αのタンパク質レベルは、E L I S Aによって決定される。

30

【1084】

サイトカイン産生の差は、血清中のマウスT N F - αおよびI F N - αレベルによって測定するときに見られる。m i R - 1 4 2およびm i R - 1 4 6 aは結合部位または結合部位種を有するG - C S F修飾m R N Aの注射は、より低いレベルの i n v i v oのサイトカイン応答を示す。

【1085】

実施例41. 初代肝細胞におけるm i R - 1 2 2の発現

ラットおよびヒト初代肝細胞の肝細胞特異的m i R - 1 2 2のレベルを測定した。H e l a細胞および初代ラットおよびヒト肝細胞を培養し、RNAを細胞溶解物から抽出した。ラットおよびヒト初代肝細胞のm i R - 1 2 2レベルを、H e l a細胞のそれと比較した。m i R - 1 2 2レベルは、H e l a細胞に比べて、それぞれ初代ヒト肝細胞では約6倍増加し、初代ラット肝細胞では約12倍増加した。

40

【1086】

実施例42. 肝細胞におけるm i r - 1 2 2結合部位を有する修飾された核酸の発現

初代ラットおよびヒト肝細胞およびH e l a細胞を、5 0 0 μ lの細胞培養培地中でウェルあたり2 0 0, 0 0 0密度 (C e l s i sのI n V i t r o G R O培地、シカゴ、イリノイ州) に播種した。3' U T Rにm i R - 1 2 2結合部位を有するG - C S F m R N A (G - C S F m i R - 1 2 2 - 1 X) (配列番号6 6 0 0に示されるm R N A配列、配列には示されていない約1 4 0ヌクレオチドのポリA尾部、5' キャップ、キャップ1) は5メチルシチジンおよびプソイドウリジン (5 m C / p U) で完全修飾され、ま

50

たはプソイドウリジン（pU）または削除された種子（G-C S F種なし）を有する4つのmiR-122結合部位を有するG-C S F mRNAで完全修飾され（配列番号6601に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1）は、5-メチルシチジンとプソイドウリジン（5mC/pU）で完全修飾され、またはプソイドウリジン（pU）で完全修飾され、24ウェルプレート中、ウェルあたり250ngの濃度で試験した。形質移入から24時間後に、G-C S Fの発現をELISAによって測定し、結果を表33に示す。

表33. G-C S F miR-122発現

【表0033】

	HeLa細胞	初代ヒト肝細胞	初代ラット肝細胞
	タンパク質の発現(ng/ml)	タンパク質の発現(ng/ml)	タンパク質の発現(ng/ml)
G-CSF ⁺ miR-122 1X (5mC/pU)	167.34	67.60	3.40
G-CSF ⁺ miR-122 1X (pU)	292.18	116.18	25.63
G-CSF種なし (5mC/pU)	194.78	129.77	8.39
G-CSF種なし (pU)	335.78	462.88	84.93

【1087】

実施例43. 肝細胞のmiR-122結合部位を有する修飾された核酸の発現

翻訳の抑制および／または標的メッセンジャーRNAの分解によるマイクロRNA制御遺伝子の発現。G-C S F mRNAを含むMiR-122結合部位を、肝細胞に翻訳による調節を行った。

【1088】

初代ラットおよびヒト肝細胞およびHeLa細胞を、500μlの細胞培養培地中でウェルあたり200,000密度（In Vitro GRO medium from Cellsis、シカゴ、イリノイ州）に播種した。G-C S FのmRNA（G-C S Fα）（配列番号6659に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1）は5-メチルシチジンとプソイドウリジン（5mC/pU）3'UTR（G-C S F miR-122-1X）のmiR-122結合部位を有するG-C S F mRNA（配列番号6600に示されるmRNA、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1）は5-メチルシチジンおよびプソイドウリジン（5mC/pU）で完全修飾され、または削除された種（G-C S F種なし）を有する4つのmiR-122結合部位を有するG-C S F mRNAで完全修飾され（配列番号6601に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1）は、5-メチルシチジンとプソイドウリジン（5mC/pU）で完全修飾され、またはプソイドウリジン（pU）で完全修飾され、24ウェルプレート中、ウェルあたり250ngの濃度で試験した。形質移入から24時間後に、G-C S Fの発現をELISAによって測定した。G-C S F薬剤（mRNA）レベルおよびタンパク質レベルを、表34に示す。

表34. G-C S F薬剤およびタンパク質レベル

10

20

30

40

【表 0034】

	ヒト肝細胞		ラット肝細胞	
	薬物 (mRNA) レベル (HPRTに 正規化さ れた単位)	タンパク質の 発現 (ng/m l)	薬物(mRNA) レベル (HPRTに正規 化された単位)	タンパク 質の発現 (ng/ml)
G-CSF alpha (5mC/pU)	43237.6	247.26	26615.88	784.6
G-CSF miR-122- 1X (5mC/pU)	46340.9	74.07	20171.07	40.628
G-CSF種なし (5mC/pU)	70239.7	298.28	23170.47	894.06

10

【1089】

実施例 44. 微小生理系

ポリヌクレオチド、一次構築物および／または本発明の mmRNA を、緩衝液、脂質ナノ粒子および PLGA 等の本明細書に記載される方法 1 つを使用して製剤化する。これらの製剤を、その後に投与するか、または国際公開番号 WO 2013086502 号、WO 2013086486 号および WO 2013086505 号（その各々の内容は参照により全体が本明細書に組み込まれる）に記載のように臓器チップから作成された微小生理系と接触させる。

20

【1090】

実施例 45. 非翻訳領域の翻訳エンハンサー要素 (TEE)

シグナルセンサーポリヌクレオチドの 5' および／または 3' 非翻訳領域 (UTR)、一次構築物および／または本明細書に記載の mmRNA は、少なくとも 1 つの翻訳エンハンサー要素 (TEE) を含むことができる。5' UTR および／または 3' UTR に含むことができるそのような TEE として、限定されないが、表 35 に列挙したものが挙げられ、部分および／またはその断片を含む。TEE 配列は、少なくとも 5%、少なくとも 10%、少なくとも 15%、少なくとも 20%、少なくとも 25%、少なくとも 30%、少なくとも 35%、少なくとも 40%、少なくとも 45%、少なくとも 50%、少なくとも 55%、少なくとも 60%、少なくとも 65%、少なくとも 70%、少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 99% または 99% 以上の表 35 に開示された TEE 配列を含むことができ、および／または TEE 配列は、5～30 ヌクレオチド断片、5～25 ヌクレオチド断片、5～20 ヌクレオチド断片、5～15 ヌクレオチド断片、5～10 ヌクレオチド断片の表 35 に開示された TEE 配列を含むことができる。

30

表 35. TEE 配列

【表 0 0 3 5 - 1】

TEE識別子	配列	配列番号
TEE-001	MSCSGCNGMWA	6645
TEE-002	RNSGAGMGRMR	6646
TEE-003	RNSGAGMGRMRRR	6647
TEE-004	RMSCSGCNGMWR	6648
TEE-005	GCGAGAGAA	-
TEE-006	GGGAGCGAA	-
TEE-007	GCGAGAGGA	-
TEE-008	GCGAGCGGA	-
TEE-009	CGGAGCGAA	-
TEE-010	CGGAGCGGA	-
TEE-011	ACGAGAGGA	-
TEE-012	ACGAGCGGA	-
TEE-013	GACGAGAGGA	6649
TEE-014	GACGAGAGAA	6650
TEE-015	AGCGAGCG	-
TEE-016	AGGAGAGGA	-
TEE-017	GCCGAGAGA	-
TEE-018	CGAGAGGCA	-
TEE-019	GAGAGGAGC	-
TEE-020	CGCGGCGGA	-
TEE-021	CGCCGCGGC	-
TEE-022	GCGGCTGAA	-
TEE-023	CCGGCTGAA	-
TEE-024	CGCCGCTGAA	6651
TEE-025	CGCCGCGGAA	6652
TEE-026	CGCCGCCGAA	6653
TEE-027	CCCGCGGAA	-
TEE-028	CCCGCGGAA	-
TEE-029	CCCGCTGAA	-
TEE-030	CCCGGCGGA	-
TEE-031	CGCGGCTGA	-
TEE-032	CGGCTGCTA	-
TEE-033	CCCGGCGGA	-
TEE-034	AGCCGCCGCA	6654
TEE-035	ACGCCGCCGA	6655
TEE-036	GGCATTTCATCGT	6656
TEE-037	GCATTAGTATCT	6657
TEE-038	TCGGTTATTGTT	6658
TEE-039	TCCAATTGGGAA	6659
TEE-040	ATCTATTGGCCA	6660

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 2】

TEE-041	TTACTGGGTGTT	6661
TEE-042	AGGGTGAAGGTC	6662
TEE-043	GGTGGGTGTGTC	6663
TEE-044	CGCTTCAATGCT	6664
TEE-045	TGCTTCAATGCC	6665
TEE-046	TGTGTCTTTGCA	6666
TEE-047	CACGGGGACAGC	6667
TEE-048	AAGCTGTACATG	6668
TEE-049	GATGGGGGCACA	6669
TEE-050	ATATGTGCCCTT	6670
TEE-051	TCCTTCTGGGTC	6671
TEE-052	GGTGGGTGTGTC	6672
TEE-053	GAATGGATGGGG	6673
TEE-054	CAXGTGATATTC	6674
TEE-055	AGGAGGGTTTGT	6675
TEE-056	TGGGCGAGTGGG	6676
TEE-057	CGGCTCACCAGT	6677
TEE-058	GGTTTCXATAAC	6678
TEE-059	GGTGGGTGTGTC	6679
TEE-060	TTACTGGGTGTT	6680
TEE-061	AAGTCTTTGGGT	6681
TEE-062	CCGGCGGGU	-
TEE-063	CCGGCGGG	-
TEE-064	CCGGCGG	-
TEE-065	CCGGCG	-
TEE-066	CCGGC	-
TEE-067	CCGGCGGU	-
TEE-068	GGGAGACGGCGCGGTGGCGGCGCGGGCAGAGCAAAG GACGCGGCGGATCCCACTCGCACAGCAGCGCACTCGG TGCCCCGCGCAGGGTCG	6682
TEE-069	AAAGAAATGGAATCGAAGAGAATGGAAACAAATGGAA TGGAATTGAATGGAATGGAATTGA ATGGAATGGGAACG	6683
TEE-070	AAAGAAATGGAATCGAAGAGAATGGAAACAAATGGAA TGGAATTGAATGGAATGGAATTGA ATGGAATGGGAACG	6684
TEE-071	AGACAGTCAGACAATCACAAAGAAACAAGAATGAAAA TGAATGAACAAAACCTTCAAGAAATATGGGATTATGAA GAGGCCAAATGT	6685
TEE-072	AAAAGGAAATACAAGACAACAAACACAGAAACACAAC CATCGGCATCATGAAACCTCGTGAAGATAATCATCAG GGT	6686

10

20

30

【表 0035-3】

TEE-073	AGACCCTAATATCACAGTTAAACGAACTAGAGAAGGAA GAGCAAAACAAATTCAAAAGCTAGCGGAAAGCAAGAAA TAACTAAGACCAG	6687
TEE-074	AAAGACTTAAACATAAGACCTAAAAACATAAAACCAC AGAAGAAAACATAGGCAATGCCATTGAGGACATAGGC ATGGGCAAAAGACTTC	6688
TEE-075	AGCAATAACCAAAACAACCTCATTAAAAAGTAGGCAAAAG GACATAAACAGACACTTTTCAAAAGAAGACATACACGT GGCCAACAAACATATG	6689
TEE-076	AGAAAGAATCAAGAGGAAATGCAAGAAATCCAAAAACA CTGTAAACAGATATGATGAATAATGAGGTATGCACTCAT CAGCAGACTCGACAT	6690
TEE-077	GCACTAGTCAGATCAAGACAGAAAGTCAACGAACAAA GAACAGACTTAAACTACACTCTAGA ACAAATGGACCTA	6691
TEE-078	AGCAGCCAACAAGCATATGAAATAATGCTCCACAACAC TCATCATCAGAGAAATGCAAATCA AAACCAAAAT	6692
TEE-079	AATATACGCAATCAATAAATGTAATCCAGCATATAAAC AGTACTAAAGACAAAAACCACAT GATTATCTCAATAGATGCAGAAAAGGCC	6693
TEE-080	ATGTACACAAATCAATAAATGCAGTCCAGCATATAAAC AGAACCAAAACAAAAACCACATG ATTATCTCAATAGATGCAGAAAAGGCCTTT	6694
TEE-081	TATACCACACAAATGCAAAAGATTATTAGCAACAATTAT CAACAGCAATATGTCAACAAGTT GACAAACCTAGAGGACATGGAT	6695
TEE-082	AAACACACAAAGCAACAAAAGAACGAAGCAACAAAAG CATAGATTTATTGAAATGAAAGTA CATTCTACAGAGTGGGGGCAGCT	6696
TEE-083	GAAATCATCATCAAACGGAATCGAATGGAATCATTGAA TGGAATGGAATGGAATCATCATGG AATGGAAACG	6697
TEE-084	AACAGAATGGAATCAAATCGAATGAAATGGAATGGAAT AGAAAGGAATGGAATGAAATGGA ATGGAAAGGATTGCAATGGAATGCAATCG	6698
TEE-085	TACAAAGAACTCAAACAAATCAGCAAGAACAAAAACA ATCCCAACAAAATGTTGGACAAAG ACATGAATAGACAATTCTCGAAAGAAAGATGTACAAATG GCT	6699
TEE-086	TGTTGAGAGAAATTAAACAAAGCACAGATAAATGGAAA AACGTGTTCATAGATTGAAAGACT TCATGTTGTATGGTGTG	6700
TEE-087	AAACGATTGGACAGGAATGGAATCACCATCGAATGGA	6701

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 4】

	AACGAATGGAATCTTCGAATGGAAT TGAATGAAATTATTGAACGGAATCAAATAGAATCATCA TTGAACAGAATCAAATTGGATCAT	
TEE-088	AACAATAAACAACTCCAAGTAGACACAATAGTCAAAT TGCTGAAAATGAAATATAAAGGAA CAATCTCGATGGTAGCCCAAGGA	6702
TEE-089	AAATCAATAAATGTAATTGAGCATATAAACAGAAACAA AGACAAAAACCACATGATTATCTC AATAGATGCAGAAAAGGCCTTT	6703
TEE-090	GCTCAAGGAAATAAAATAGGACACAAAAGAAATGGAAA AACATTCCATACTCATGGATAGAA AGAATCAATATCATGAAATGGCC	6704
TEE-091	AACATACGCAAATCAATAAATGTAATCCAGCATATAAAC AGAACCAGGACAAAAACCACAT GATTATCTCAATAGATGCAGAAAAGGCC	6705
TEE-092	AACAATCACTAGTCCTTAAGTAAGAGACAACACCTTTT GTCACACACAGTTTGTCTAACTTT ATCTTGGTAATTGGGGAGACC	6706
TEE-093	AGAAAAACACAGACAACAAAAACACAGAACGACAA TGACAAAATGGCCAAAGC	6707
TEE-094	ACACAACAACCAAGAAACAACCCCATTAAGAAGTGGG AAAAATACATGAATAAACACATCTC AAAAGAGACAAACAAGTGGCTAAC	6708
TEE-095	ACAGCAGAAAACGAACATCAGAAAATCACTCTACATGA TGCTTAAATACAGAGGGCAAGCAA CCCAAGAGAAAACACCACTTCCTAAT	6709
TEE-096	GAATAGAACAGAATGGAATCAAATCGAATGAAATGGAA TGGAATAGAAAGGAATGGAATGA AATGGAATGGAAGGATTGGAATGGAATG	6710
TEE-097	TAAGCAGAGAAAATATCAACACGAAAATAATGCAAGGA GAAAAATACAGAACAATCCAAAA TGTGGCC	6711
TEE-098	GAACAATCAATGGAAGCAGAAACAAATAAACCAAGGT GTGCATCAAGGAATACATTACGC ATGATGGCTGTATGAGTAAATG	6712
TEE-099	GATCAATAAATGTAATTGATCATATAAACAGAGAACTAA AGACAAAAACACATGATTATCGC AATACATGCAGAAAAGGCC	6713
TEE-100	GACAAGAGTTGAGAAAGGAAGACTACACAGAAATACG CATTTTAAAGTCACTGACATGGAGA TGACACTTAAACCATGAACATGGATGGG	6714
TEE-101	AAGCAAGAAAAGATGAAGCAGCAAAAGAACGAAAAGC AGGAATTTATTGAAAACCAAGTA CACTCCACAGTATGGGAGCGGACCCGAGCA	6715

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 5】

TEE-102	ACCAACATAAGACAAAGAAACATCCAGCAGCTGCCTAT GGCAAAAGATTACAATGTGTCAA CAAGAGGGCAATG	6716
TEE-103	GGACAAATTGCTAGAAATAAACAAATTACCAAAATGA TTCAAGTAGAGACAGAGAATCAA AATAGAACTACACATAAGTGGGCCAAG	6717
TEE-104	AACATAATCCATCAAATAAACAGAACCAAGACAAAA CCACATGATTATCTCAATAGATGC AGAAAAAGCCTTC	6718
TEE-105	AAAATCAATATGAAAAACAAACACAAGCAGACAAAGAA AATTGGGCAAAAGGTTTGAGCAGA CACTTCACCAAGAAGTACAAATGGCAATCAGCA	6719
TEE-106	AACCAAAATTAGACAAATTGGAATCATTACACATAACA AAAGTAATAAACTGTCAGCCTCAG TAGTATTCAATTGTACATAAACTGGCC	6720
TEE-107	AAGGAATTTAAGCAAATCAACAAGCAAAACCAAAATAA TCCCATTAAAAAGTGGGTAAAGG ACATGAATACACACTTGTCAATAGAGGACATTCAAGTG GCCAAC	6721
TEE-108	TAACCTGATTTGCCATAATCCACGATACGCTTACAACA GTGATATACAAGTTACATGAGAAAC ACAAACATTTTGCAAGGAACTGTGGCCAGATG	6722
TEE-109	AACTAACACAAGAACAGAAAAACCAACATCAGATGTTT TCACTCATAAGCGGGAGCTGAACA ATGAGAACACACGACACAGGGAGAGGAACATG	6723
TEE-110	TAACTGACACAAACACAGACACAGATACACACATA CATACAGAAATACACATTCACACA CAGACCTGGTCTTTGGAGCCAGAGATG	6724
TEE-111	ATCAACAGACAACAGAAACAAATCCACAAAGCACTTA GTTATTAGAACTGTCATACAGACTG TACAACAACCATTTACCAT	6725
TEE-112	AAATAAGCCAACGGTCATAAATTGCAAAGCCTTTTACA ATCCAAACATGATGGAAACGATAT GCCATTTTGAAGGTGATTTGAAAAGCACATGGTTT	6726
TEE-113	AAACAGTTCAAAAATTATTGCAACAAAATGAGAGAGAT GAGTTTATCTTGCAAACATAATGGA TGGTAGCAGTGACAGTGGCAAAACGTGGTTTGATTCT	6727
TEE-114	TAAGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAAATCAAT GTACAAAAATCACAAGCATTCTTA TACACCAACAACAGACAAACAAGAGTGCCAAATCATG	6728
TEE-115	AGCAAAACAAACAAACAAACAAACAACTATGACAGGA ACAAAACGTACATATCAACATTA ACAAAGAATGTAAACAGCCTAAATGCTTCACTTAAAA TTATAGACAGGGGCTGGGCATGGT	6729

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 6】

	GGCTCACGCC	
TEE-116	GGAAATAACAGAGAAACACAAACAAATGGGAAAACATT CCATGTTTCATGGATAGGAAGAATC AATATTGTGAAAATGGCCATACT	6730
TEE-117	AGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAAATCAATGT ACAAAAATCACAAGCATTCTTATA CACCAATAACAGACAAACAGAGAGCC	6731
TEE-118	AGATAAGAATAAGGCAAACATAGTAATAGGGAGTTCAT GAATAACACACGGAAGAGAACT TACAGGGCTGTGATCAGGAAACG	6732
TEE-119	AGGAAATAAAAGAAAGACACAAACAAATGGAAGAACAT TCCATGCTTATGGATAGGAGAAT CAGTATCGTGAAAATGGCCATACT	6733
TEE-120	AACATACGAAAATCAATAAACGTAATCCAGCATATAAA CAGAACC AAAAGACAAAAACCACA TGATTATCTCAATAGATGCAGAAAAGGCCTTT	6734
TEE-121	AATGGACTCGAATGAAATCATCATCAACCGAATCGAA TGGAATCATTGAATGGAATGGAAT GGAATCATCATGGAATGGAAACG	6735
TEE-122	AAGATTAAACATAAGACCTAAAACGACAAAAATCCTA GGAGAAAACCTAAGCAATACCATT CAGGACATAGGCATGGGCAAAGACTTCATG	6736
TEE-123	TAATGAGAAGACACAGACAAACAAAGAATCACAGAA ACATGACACAGGTGACAAGAACAG GCAAGGACCTGCAGTGCACAGGAGCC	6737
TEE-124	TAAACGTTAGACCTAAAACCATAAAAACCTAGAAAGAA AACCTAGGCATTACCATTACAGGAC ATAGGCATGGGCAAGGAC	6738
TEE-125	GAATTGAATTGAATGGAATGGAATGCAATGGAATCTAA TGAAACGGAAGGAAAGGAATGG AATGGAATGGAATG	6739
TEE-126	GTAATGGAATGGAATGGAAAGGAATCGAAACGAAAGG AATGGAGACAGATGGAATGGAATG GAACAGAG	6740
TEE-127	AGAGAAATGCAAATCAAAACCAATGGAATACCATCT CACGCCAGTCAGAATGGCAATTAT TAAAAAATCACAACAATTAATGATGGCAAGGCTGTGG	6741
TEE-128	AACATACACAAATCAATAAACGTAATCCAGCTTATAAA CAGAACC AAAAGACAAAAACCACAT GATTATCTCAATAGATGCGGAAAAGGCC	6742
TEE-129	TAAACAGAACC AAAAGACAAAAATCACATGATTATCTCA ATAGATGCAGAAAAGGCC	6743
TEE-130	AATGGAATGCAATCGAATGGAATGGAATCGAACGGAA TGGAATAAAATGGAAGAAAACCTGG	6744

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 7】

	CAAGAAATGGAATCG	
TEE-131	AGATAAAAAGAACAGCAGCCAAAATGACAAAAGCAAA AAGCAAAATCGTGTAGAGCCAGG TGTGGTGATGTGTGCT	6745
TEE-132	AGGAAAGTTTTCAATATGAGAAAGATACAAACCAACAG AATAAGCAAACTGGATAAACAGA AAATACAGAGAGAGCCAAGG	6746
TEE-133	GCAATCTCAGGATACAAAATCAATGTGCAAAAATCACA AGCATTCTCATACACCAATAACAG ACAAACAGAGCCAATCATG	6747
TEE-134	AGCATTTCATATCTTGCACTGTTGGGAAAGAGTGAGAG GTTGTGATGTCAAGAAGGATAGGTC AGAAGTGGAAGGTATGGGGGATTGTGCCTGCTGTCAT GGCT	6748
TEE-135	AGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAAATCAATGT GCAAAAATCACAAGCATTCTTATA CACCAATAACAGACAAACAGAGAGCC	6749
TEE-136	AGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAAATCAATGT GCAAAAATCACAAGCATTCTTATA CACCAACAACAGACAAACAGAGAGCC	6750
TEE-137	TAAGCCGATAAGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGAGAC AAAATCAATGTGCAAAAATCACAA GCATTCTTATACACTAATAACAGACAAACAGAGAGCCA AATCATG	6751
TEE-138	AACGTGACATACATACAAAAGTTTTAGAGCAAGTGA AATTTAGCTGCTATATGTTAATTG GTGGTAATCCC	6752
TEE-139	TACGCAAATCGATAAATGTAATCCAGCATATAAACAGA ACCAAAGACAAAAACCACATGATT ATCTCAATAGATGCAGAAAAGGCC	6753
TEE-140	GCAATCGAATGGAATGGAATCGAACGGAATGGAATAA AATGGAAGAAAACGGCAAGAAAT GGAATCG	6754
TEE-141	TTGAATCGAATGGAATCGAATGGATTGGAAAGGAATAG AATGGAATGGAATGGAATTGACTC AAATGGAATG	6755
TEE-142	TAAAGAAAAACAAACAAACAGAAATCAATGAAAATCCC ATTCAAAGGTCAGCAACCTCAAA GACTGAAGGTAGATAAGCCACAAGGATG	6756
TEE-143	GTCATATTTGGGATTTATCATCTGTTTCTATTGTTGTTG TTTTAGTACACACAAAGCCACAATA AATATTCTAGGCT	6757
TEE-144	AAAAGTACAGAAGACAAACAAAAATGAGAGAGAGAAA GATAACAGACTATAGCAGCATTGG	6758

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 8】

	TGATCAGAGCCACCAG	
TEE-145	AACCCACAAAGACAACAGAGAAAAGACAACAGTAGA CAAGGATGTCAACCACATTTTGGG AGAGACAAGTAATCAAACACATGGCA	6759
TEE-146	AAAGACCGAAAACAACAACAGAAAACAGAAAACAAAC AATAAGAAAAAATGTTAAGCAAAA CAAATGATTGCACAACCTACATGATTACTGAGTGTTCT AATGGT	6760
TEE-147	AATCACTAAACGTAATACAGCATATAAACAGAACCAAA GACAAAAACCATGATTATCTCA ATAGATGCAGAAAAGGCC	6761
TEE-148	AAGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGACACAAAATCAATA TGCGAAAAATCACAAGCATTCCTAT ACACCAATAATAGACAAACAGAGAGCCAAATCATG	6762
TEE-149	AGCAACTTCAGCAAAATCTCAGGATACAAAATCAATGT ACAAAAATCACAAGCATTCCTTATA CACCAACAACAGACAAACAGAGAGCC	6763
TEE-150	TAATGCAAACTAAAACGACAATGAGATATCAATACATA ACTACCAGAAAGGCTAACAAAAA ACAGTCATAACACACCAAAGGCTGATGAGTGAGGATG TGCAG	6764
TEE-151	AGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAAATCGATGT GCAAAAATCACAAGCATTCCTTATA CACCAATAACAGGCAAACAGAGAGCC	6765
TEE-152	GATATATAACAAGAAAACAACTAATCACAACCTCAATAT CAAAGTGCAATGATGGTGCAAAA TGCAAGTATGGTGGGACAGAGAAAGGATGC	6766
TEE-153	AAGACAGAACTGAAACTCAACAGAGAAAGTAACAAG AACACCTAAGACAAGGAAGGAGAG GGAAGGCAGGCAG	6767
TEE-154	TAAGACACATAGAAAACATAAAGCAAAATGGCAGATGT AAATGCAACCTATCAATCAAAACA TTACGAATGGCTT	6768
TEE-155	TGAAACAAATGATAATGAAAATACAACATACCAACAT ACGAGATACAGTAAAAGCAGTACT AAGATGCAAGTATATATTGCTACAAGTGCCTAC	6769
TEE-156	AATGTAATCCAGCATATAAACAGAGCCAAAGACAAAA CCACATGATTATCTCAATAGATGC AGAAAAAGCCTTTGACAAAATTCAACAACCTTCATGC TAAAAACTCTCAATAAATTAGGTAT TGATGGGACG	6770
TEE-157	ACAAAATTGATAGACCACTAGCAAGACTAATAAAGAAG AAAAGAGAGAAGAATCATTACCA TTCAGGACATAGGCATGGCAAGGAC	6771

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 9】

TEE-158	AAGGATTCTGAATGGAATGCAATCGAATGGAATGGAATC GAACGGAATGGAATAAAATGGAA GAAAACTGGCAAGAAATGGAATCG	6772
TEE-159	GATCATCAGAGAAAACAGAGAAATGCAAATTTAAACCAC AATGAGATACTATCTCCACACAAG TCAGAATGGCTAT	6773
TEE-160	ATCAAAAAGAAAAGCAACCTAACAAATACGGGAAGAATA TTTGAATAGACATTTACAGGAAA AGATATATGAATGGCCAAAAAGCAAATGAAAAAG	6774
TEE-161	AACAGCAATGACAATGATCAGTAACAACAAGACTTTTA ACTTTGAAAAAATCAGGACC	6775
TEE-162	AAGAGCCTGAATAGCTAAACTGATCATAAGCAAAAAGA ACAAAGTCGGAAGCATCACATTAC CTGACTTCAAACCTATACTCAAAGGCTATG	6776
TEE-163	ACTCAGGAAAAATAACGAATCCAACCTCACAGGAGAAA GAAGTACAAACCAGAAACCAATTT CAAATTACAAGGACCAGAATACTCATGTTGGCTGGCCA GT	6777
TEE-164	TTGACCAGAACACATTACACAATGCTAATCAACTGCAA AGGAGAATATGAACAGAGAGGAGG ACATGGATATTTTGTG	6778
TEE-165	AACATATGGAAAAAACTCAACATCACTGATCATTAGA GAAATGCAAATCAAAACCACAATG AGATACCATCTCACGCCAGTCAGAATGGCG	6779
TEE-166	AGCAACTTCAGCAAAAGACTCAGGATACAAAATCAATGT GCAAAAATCACAGCATTTCTTATA CACCAATAACAGACAGAGAGCCAAAT	6780
TEE-167	TGGGATATGGGTGAAAGAACAAGTTTGCAGAAAAGAT ACAGTGAATTATGGACCATGAGTTC GGGAAAGAAAGGTAGGACTGCG	6781
TEE-168	AGCAGTGCAAGAACAACATAACATACAAGTAAACAAAC ACATGGGGCCAGGTAATAAAAAAG TCAGGCTCAAGAGGTCAG	6782
TEE-169	AAGGAAAAAGTAAAAAGAACTTAACACCTTCAAGAAAA GACAGACAAATAACAAAACAGCAG TTTGATAGAATGAGATATCAGGGGATGGCA	6783
TEE-170	GCTAGTTCAACATATGCAAAATCAATAAACGTAATCCAT CACATAACAGAACCAATGACAAA AACCACGATTATCTCAATAGATGCAGAAAAGGCC	6784
TEE-171	AACATCACTGATCATTAGAAACACACAAATCAAAACCA CAATAAGATACCATCTAACACCAG TCACAAATGGCTATT	6785
TEE-172	AGAGCATCCACAAGGCCCAATTCAAAGAATCTGAAATA ATGTATTGTTACTGCAACAGTTGTG	6786

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 1 0】

	AGTACCACTGGCATCAG	
TEE-173	GGAATAACAACAACAACCAAAAGACATATAGAAAA CAAACAGCACGATGGCAGATGTA AAGCCTACC	6787
TEE-174	AAACGCAGAAACAAATCAACGAAAGAACGAAGCAATG AAAGACAAAGCAACAAAAGAATG GAGTAAGAAAGCACACTCCACAAAGTGGAAGCAGGCT GGGACA	6788
TEE-175	AGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAAATCAATGT GCAAAAATCACAGCATTCTTATA CACCAACAACAGACAAACAGAGAGCC	6789
TEE-176	AGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAAATCAATGG GAAAAAATCACAGCATTCTTATA CATCAATAACAGACAAACAGAGAGCC	6790
TEE-177	ACACATTTCAAGGAAGGAAACAAGAACAGACAGAAAC ACAACATACTTCATGAAACCACATT TTAGCATCCTGGCCGAGTATTCATCA	6791
TEE-178	AGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGACACAAAATCAATG TGCAAAAATCACAGCATTCTTATA CACCAATAACAGACAAACAGAGAGCC	6792
TEE-179	TATTTTACCAGATTATTCAAGCAATATATAGACAGCTTA AAGCATACAAGAAGACATGTATAG ATTTACATGCAAAACACTGCACCACTTTACATAAGGGAC TTGAGCAC	6793
TEE-180	CCCAACTTCAAATTATACTACAAGGCTACAGTAATCAA AAAAGCATAGTACTATTACAAAAA CAGACACACAGGCCAATGGAATACAAT	6794
TEE-181	AGAAAAGGATTGGAATGGAATGAAAAAGAATTGAATGG AATAGAACAGAATGGAATCAAATC GAATGAAATGGAATGGAATAGAAAGGAATGGAATG	6795
TEE-182	GTTTACAGTCAAGTGTACAAACAGAAATATAAGCAAACA AAAGAGAACATATACTTACAAACT ATGCTAAGTGCCATGAAGGAAAAG	6796
TEE-183	AAGAGTATTGAACTTGACATATCTAGACTGATCAAGAA CAAAGACAAAAGGTACAGATTATC AAGAAAATGAGCGGGCAAAGCAAGATGGCC	6797
TEE-184	AGTAGAATTGCAATTGCAAAATTCACACATATACTCAC ACACAAGTACACACATCCACTTTTA CAACTAAAAAACTAGCACCCAGGACAGGTGCAGTGG CT	6798
TEE-185	TGAATGCTATAGAGCAGTAAAAACAAATAAATGAACTA CATTACAGCTACTTACAACCATAT GAAAGAATATAACCATAACAATGATGAGTGGACAAAAG CTAAGTGTGAAAGAATGCATAGT	6799

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 1 1】

	GCTACAGCAGCCAAACATTTACAGC	
TEE-186	GAATGGAATCAAATAGAATGGAATCGAAACAAATGGAA TGGAATGGAATGGGAGCTGAGAT TGTGTCACTGCAC	6800
TEE-187	TAAAAGTGTGCTCAACATCATTGATCATCAGAGAAATG CAAATCAAACTACAATGAGATAT CATCTCATCCAGTCAAAGTGGCT	6801
TEE-188	TCAGACCATAGCAGATAACATGCACATTAGCAATACGA TTGCCATGACAGAGTGGTTGGTG	6802
TEE-189	ACAAACAATCCAATTCGAAAATGGGCAAGATATTTAC CAAAGACATGAGCTGATATTTAC	6803
TEE-190	AGGAAAAACAACAACAACAGGAAAAACAACCTCAG TATGAAGACAAGTACATTGATTTAT TCAACATTTACTGATCACTTTTCAGGTGGTAGGCAG	6804
TEE-191	AACAAAAACAAAACCCAACTCAATAACAAGAGACAA ACAACCAATTTAAAAATGAGCAA GAACCTTGATAAACATGTCTCCAAAGAAGATACGGCCAA AGAGCAC	6805
TEE-192	ATACAACATAAGCAAATATAAGCAAATAAGCAAACACT ACAACATAAGCAAAACAGAACAA GACTGCCAGGGCCTAGAAAAGCCAAGAAC	6806
TEE-193	AACAACAACAACAACAGGAAAAACAACCTCAGTATGAA GACAAGTACATTGATTTATTCAACA TTTACTGATCACTTTTCAGGTGGTAGGCAGACC	6807
TEE-194	AGAGAGTATTTCATCATGAGGAGTATTACTGGACAAATA ATTCACAAACGAACAAACCAAAGC GATCATCTTTGTAAGTGGCTGGCTA	6808
TEE-195	AGTAAATCACCATAAAGAAAGTAAGAGTTCATTACAA AAACAACAACCTGAAGAATCAGGC CATAGTA	6809
TEE-196	AAAATAGAATGAAAGAGAATCAAATGGAATTGAATCGA ATGGAATCGAATGGATTGGAAAAG GAATAGAATGGAATGGAATGGAATG	6810
TEE-197	AAAAGATGCAAAAGTAGCAAATGCAATGTTAAAAACAAG CAAAGAAAGAATCAGGTGGACCA CATAGTGCAGTGCTTCTC	6811
TEE-198	TTACAGCAGCATTACGCACAATAGCCAGAAGCTGGG AACAGACAAAATGCCTTTTGATGGG	6812
TEE-199	CCATAACACAATTAAAAACAACCTAAATGTCTAATAGA AGAACACTGTTTACAGACCGGGCATG GTGGCTTATACC	6813
TEE-200	TGGATTTAGATATTTAACACAAAATAGTCAAAGCAGA TAAATACTAGCAACTTATTTTAAAT GGGTAACATCATATGTTCTGTCCTT	6814

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 1 2】

TEE-201	ATCATTGAATGCAATCACATGGAATCATCACAGAATGG AATCGTACGGAATCATCATCGAAT GGAATTGAATGGAATCATCAATTGGAATCGAATGGAAA CATCAAATGGAATCGATTGGAAGT GTCGAATGGAATCG	6815
TEE-202	AGAAACAGCCAGAAAACAATTATTACCTACAGCATTA AACTATTCAAATGACAGCATATTTT TCAGCAGAAATCATGAAGGCCAGAAAGGACGTGTCAT	6816
TEE-203	AAAATGATCATGAGAAAATTGAGCAACAAAACCATGAA ATTGCAAAAGATATTACTTTTGGGA TGGAAACAGAGCTGGAAAGGCAAAAGAG	6817
TEE-204	AACCACTGCTCAAGGAAATAAGAGAGAACACAAACAA ATGAAAAAACATTCATGCTCATGG ATAGGAAGAATCAG	6818
TEE-205	TACTCTCAGAAAGGGAAGCAGATATTCAGCATAAATCAT ATTGTTGTACAAAGAGTCTGGGCA TGGTGAATGACACT	6819
TEE-206	TATAGTTGAATGAACACACATACACACACATGCCAC AAAACAAAACAAAGTTATCCTCA CACACAGGATAGAAACCAAAACCAATCCCAACACATG GCAAGATGAT	6820
TEE-207	GCTCAAAAGAAATCAGAAATGACACAAGCAAAATGGAAA AACATGCCATGTTTATGAATATGAA GAATCAATATTGTTAAATGGCCATACTGCTCA	6821
TEE-208	GGATACAAAATCAATGTACAAAATCACAAAGCATTCTT ATACACCAATAACAGACAAAACAGA GAGCC	6822
TEE-209	AGCAACTTCAGCAAAAGTCTCAGGATACAAAATCAATGT ACAAAATCACAAAGCATTCTTATA CACCAACAACAGACAAACAGAGAGCC	6823
TEE-210	AGGAGAATAGCAGTAGAATGACAAAATTAGATTTTAC ATGAACTTGATGACAGTGTAGGA AATGGACTGAAAGGACAAGAC	6824
TEE-211	AGCAACTTCAGCAAAAGTCTCGGGATACAAAATCAATGT GCAAAAATCACAAAGCATTCTTATA CACCAATAACAGGCAAAACAGAGAGCC	6825
TEE-212	AAGTTCAAACATCAGTATTAACCTTGAACATCAATGGC CTACATGCATCACTTAAACATACA GACAGGCAAATTGGGTTAAGAAAACAAACAAGCAAAAC AAAACATGTTCCAAACATTTGTTGG CTAT	6826
TEE-213	AAGAAACAATCAAAAGGAAGTGCTAGAAATAAAACAC ACTGTAATAGAAAAGAAGATGCC TTATGGGCTTATCAATAGACTAGACATGGCCAGG	6827

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 1 3】

TEE-214	AAAGAAAGACAGAGAAACAAACGTAATTCAAGATGACT GATTACATATCCAAGAACATTAGAT GGTCAAAGACTTTAAGAAGGAATACATTCAAAGGCAA AAAGTCACTTACTGATTTTGGTGGA GTTTGCCACATGGAC	6828
TEE-215	AGCAACTTCAGCAAAGTTTCAGGATACAAAATCAATGT GCAAAAATCACAAGCATTCTTATA CACCAACAACAGACAAAACAGAGAGCC	6829
TEE-216	AGAATCAAATGGAATTGAATCGAATGGAATCGAATGGA TTGGAAAGGAATAGAATGGAATG GAATGGAATG	6830
TEE-217	AAACAGAACCACAGATATCTGTAAAGGATTACACTATA GTATTCAACAGAGTATGGAACAGA GTATAGTATTCACAGAGTATGCAAAAGAACTAAGGCC AGAAAG	6831
TEE-218	AAAAAATGTTCAACATCACTAGTCAGCAGAGAAATGCA AATCAAAATCACAATGAGATAACT TCTCACACCAGACAGCATGGC	6832
TEE-219	GAATCCATGTTTCATAGCACAACAACCAACAGAAGAAA TCACTGTGAAATAAGAAACAAAGC AAAACACAGATGTCGACACATGGCA	6833
TEE-220	AGGATACAAAATCAAAGTGCAAAAATCACAAGCATTCT TATACACCAATAACAGACAAACAG AGAGCC	6834
TEE-221	AACAGATTTAAACAAACCAACAAGCAAAAAACGAACA ACTCCATTCAAACATGGACAAAAG ACACGAACAGACACTTTTCAAAGAGACATACATGTG GCC	6835
TEE-222	AAAGACAATATACAAATGGCCAATAAGCACATGAAAAG ACGCTCAACATCCTTAGTCGTAA GGCAATGCAAATCAAAACCACAATG	6836
TEE-223	TAAACAACGAGAACACATGAACACAAAGAGGGGAACA ACAGACACCAAGACCTTCTTGAGG GTGGAGGATGGGAGGAGGGAG	6837
TEE-224	GGTTCAACTTACAATATTTTGAAGTTCAGCAACAGTGCAA AAGCAATACACGATTAGTAGAAAC ACACTTCCAATGCCATAGGACCATTCTGC	6838
TEE-225	AGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAAATCAATGA GCAAAAATCACAAGCATTCTTACA CACCAATAACAGACAAACAGAGAGCC	6839
TEE-226	AATCCAGCATATAAACAGAACCAAGACAAAACCCACA TGATTATCTCAATAGATGCAGAAA AGGCC	6840
TEE-227	TGAAAATACAAATGACCATGCAAGTAATTCGCAGGGA	6841

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 1 4】

	GAGAGCGGATATGAACAAACAGA AGAAATCAGATGGGATAGTGCTGGCGGGAAGTCA	
TEE-228	GCAAATGATTATAAGTGCTGTTATAGAAACATTCAAAG ACCAGAAAAGGACCACAATGGCTG ACCAAC	6842
TEE-229	AGTCAATAACAAGAAGACAAACAACCCAATTACAAAAT GGGATATGAATTTAATAGATGTTA CTCCAAGGAAGATACACAAATGGCCAAC	6843
TEE-230	ATGGTTAAAACTCAACAATGAAAACACAAACAGCGCA ATTTAAAAATGGGCAAAATGACAG GCCAGACCCAGTGGCTCATGCG	6844
TEE-231	TAACACTCAGAGAACTCAACAAAACACTATACATGCA TTTACCAGTTTATTATAAGATACA AGTCAGGAACAGCCAAATGGAGAAATGTAAATGGCA AG	6845
TEE-232	AACAGACCATAAATAAACACAGAAGACACACGAGTGT AAAGTCAGTGCCCGCTGCCAATTA AATCGGGGTGATGTGATGGCGAGTGAGTGGGTAGTT	6846
TEE-233	GAATAGAATAGAATGGAATCATCGAATGGAATCGAATG GAATCATCATGATATGGAATTGAG TGGAATC	6847
TEE-234	GGAATCTATAATACAGCTGTTTATAGCCAAGCACTAAA TCATATGATACAGAAAACAAATGC AGATGGTTTGAAGGCTGGG	6848
TEE-235	AAGATAGAGTTGAAACAGTGGACAATTAAAGAGTAATT TGGAAGAATGGTGAAATTACAGCC ATGCTTTGAATCAGGCGGGTTCAGTGGC	6849
TEE-236	TGAAAAGAAGAATGACCATAAGCAAGCAGATGAAAAA CAAAACAGAATTTTACAGACGTCT TGGACTGATATCTTGGGC	6850
TEE-237	AGGAATCTATAATACAGCTGTTTATAGCCAAGCACTAA ATCATATGATACAGAAAACAAATG CAGATGGTTTGAAGGCTGGG	6851
TEE-238	AGGAAAAGAAAAGAAATAGAAAATGCGAAATGGTAAGA AAAAACAGCATAATAAACATTTGT ATGGTGTTGATGGACAATGCATT	6852
TEE-239	TAACAGTACCAAAAAACAGTCATAATCTTCAAGAGCTT AAATTTAGCATGAAAGGAAACAT TCATCAAAGAATCACACAAAGGAATGTAAATTAATG GAGATTAGTCCAGGAAAGAGC	6853
TEE-240	GCAAAACACAAACAACGCCATAAAAACTGGGCAAAAG GATATGAACAGACATTTTCAAAC AAAACATACTTATGGCCAAC	6854
TEE-241	AACAAAATTGAACAACATGCAAAGAAACATAAACGAA	6855

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 1 5】

	GCAATGAAAAGTGTGCAGATCCACT GAAATGAAAAGTGCTGTCCAGAGTGGGAGCCAGCTCGA GA	
TEE-242	GAATGGAATCAACATCAAACGGAATCAAACGGAATTAT CGAATGGAATCGAAGAGAATCATC GAATGGCCACGAATGGAATCATCTAATGGAATGGAATG GAATAATCCATGG	6856
TEE-243	TACAAGAAAATCACAGTAACATTTATAAAACACAGAAG TGTGAACACACAGCTATTGACCTT GAAAACACTGAAAGAGGGTCAGCTGTAGAACTAAGAC ATAAGCAAAGTTTTTCAATCAAGAA TACATGGGTGGCC	6857
TEE-244	AAGAATTGGACAAAACACACAAAACAAAGCAAGGAAGG AATGAAAGGATTGTGTTGAAAATGA AAGTACACTCCACAGTGTGGGAGCAG	6858
TEE-245	ACAGTTAACAAAAACCGAACAACTCTAATTACGAAATGA ACAAAAGATATGAACAGACATTTT ACCCGAGACTATACAGGGGCCAGGCATGCT	6859
TEE-246	AAACGCACAAACAAAGCAAGGAAAGAAATGAAGCAACA AAAGCAGAGATTTATTGAAAATGA AAAATACACTCCACAGGGTGGG	6860
TEE-247	CACCATGAGTCATTAGGTAAATGCAAAATCAAACCCACA ATGAAATACTTCACACCCATGAAG ATGGCTATAATAAAAAACAGACA	6861
TEE-248	AGCAACTTCAGCAAAAGTCTCAGGAGACAAAATCAATG TACAAAAATCACAAGCATTCTTATA CACCAATAACAGACAAACAGAGAGCC	6862
TEE-249	TGACATGCAAGAAATAAGGAAGTGCAAAAACAAACAA ACAAACAACAACAACAACAAC AACAAACAACAAAAACAGTCCCAAAAGGATGGGCAG	6863
TEE-250	AGACTTGAAAAGCACAGACAACGAAAGCAAAAATGGA CAAAATGGAATCACATCAAGCTAAA AGGTTTTGCATGGCAAAGG	6864
TEE-251	GCAAAAAGAAACAATCAGTAGAGTAAACAGACAACTCA TAGAATGCAAGAAAATCATCGCAA TCTGTACATCCAACAAAGGGCT	6865
TEE-252	ACAAAATCAAACCTACCTCGATAAGAATGCAAGTGAAT CAAAATGAGTTTCAAGGGGTGTG GCTAGTACACGCTTTCTACAGCTG	6866
TEE-253	ACAAACCACTGCTCAAGGAAATAAGGACACAAACAAA TGGAACAACATTCCGTGCTCATGGA TAGGAAGAATCAATATCGTGAAAATGGCCATACT	6867
TEE-254	GAACGATTTATCACTGAAAATTAATACTCATGCAAGTA GTAAACGAATGTAATGACCATGAT	6868

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 1 6】

	AAGGAGACGGACGGTGCTGATACT	
TEE-255	AGCAGAGAAAATAACTGAAATCAGAGTGAAACTGAAT CAAATTGAGATGCAAAAATACATA CGAAATGGCCAG	6869
TEE-256	TGAATAGACACACAGACCAATGGAACAGAATAGAGAA CACAGAATAAATCTGCACACTTATA GCCAGCTGATTTTGGACAAATTTGCCAAG	6870
TEE-257	AGCAACTTCAGCAGTCTCAGTATACAAAACAATGTGC AAAAATCACAAGCATTCTATATG CCAATAACAGACAAACAGAGAGCC	6871
TEE-258	ACCAATCAAGAAAACAATGCAACCCACAGAGAATGGA CAAAAGCAAGGCAGGACAATGGCT	6872
TEE-259	GCCACAATTTTGAAACAACCATAATAATGAGAATACAC AAGACAACTCCAATAATGTGGGAA GACAACTTTGCAATTCACATCATGGC	6873
TEE-260	GAAAATGAACAATATGAACAAACAAAATAATTACTAC CCTTACGAAAGTACGTGCATTCTA GTATGGTGACAAAAAGGAAA	6874
TEE-261	TATGCAAATCAATAAACATAATCCATCACATAAACAGAA ACAAAGACAAAATGACATGATTA TCTCAATAGATGCAGAAAAGGCC	6875
TEE-262	CACCCATCTGTAGGACCAGGAAGCCTGATGTGGGAGA GAACAGCAGGCTAAATCCAGGGTTG GTCTCTACAGCAGAGGAATCACAAGCCTGTTAGCAA GTGAAGAACCAACACTGGCAAGAGT GTGAAGGCC	6876
TEE-263	AGGATACAAAATCAATGTACAAAATCACAACATTTCT TATACACCAACAACAGACAAACAG AGAGCCAAATCATGGGTG	6877
TEE-264	AGGAAAATGCAAAATCAGAACGACTATAACACACCATCT CAAACTCGTTAGGATGGCTATTAT CAAAAAGTCAAGAGATAACAAATGTGGGCAAGGG	6878
TEE-265	GTAACAAAACAGACTCATAGACCAATAGAACAGAATAG AGAATTGAGAAATAAGACTGCACT TCTATGACCATGTGATCTTAGACAAACCT	6879
TEE-266	AAAGGAAAACACAAAACACTGCTGAAAGAAATCATT GACAACACAAAACAAATGGAAACAC ATCCCAAGATCATGGGTGGGTGGAATCAAT	6880
TEE-267	ACACACATACCAACAGAACATGACAAAAGAACAAAAC CAGCCGCATGCATACTCGATGGAG ACAAAGGTAACACTGCAGAATGGTGAAAGGAACAG TCATTTTAATGACAGTGTGGCT	6881
TEE-268	AACTAAGACAACAGATTGATTTACACTACTATTTTCAC ACAGCCAAAAATATCACTATGGCAA	6882

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 1 7】

	TCGTCAAAAAGGTCAATTCAAAGATGGGACAGT	
TEE-269	GATCAGCTTAGAATACAATGGAACAGAACAGATTAGAA CAATGTGATTTATTAGGGGCCAC AGCACTGTTGACTCAAGTACAAGTTCTGACTCATGTAG AACTAACACTTTT	6883
TEE-270	GAATGGAATCAAATCGAATGAAATGGAATGGAATAGAA AGGAATGGAATGAAATGGAATGG AAAGGATTGCAAT	6884
TEE-271	AAATGAACAAAACCTAGAGGAATGACATTACCTGACTTC AAATTATACTACAGAGCTATAGTA ACCAAAACAGCATGGTACAGGCAT	6885
TEE-272	GGACAACATACACAAATCAGTCAAGATACATCATTTCA ACAGAATGAAAGACAAAAACCATT TGATCACTTCAATCGATGATGAAAAAGCA	6886
TEE-273	AACTTCAGCAAATTCTCAGGATACAAAATCAATGTGCA AAAACCACAAGCATTCTTATACAC CAATAATAGACAGTGAGCCAAAT	6887
TEE-274	TATGACTTTTCAAAATTACAGAAAAAGACCCATTTG ACAAGGGAAGTGAAGTGGTGAAG ACATACTGGCAGGCTAC	6888
TEE-275	AACAGCAATAGACACAAAGTCAGCACTTACAGTACAAA AACTAATGGCAAAAGCACATGAA CTGGGACAT	6889
TEE-276	TGTAACACTGCAAACCATAAAAAACCGTAGAAGAAAACC TAGACAATACTATTACAGACATAG GCATGGGCAAAAGAC	6890
TEE-277	GAAGAAGAAAAACATGGATATACAATGTCAACAGAAA TCAAGGAGAAAACGGAATTTACCC AATCAATTTAGTGATCTGGGTT	6891
TEE-278	AAAACACACAAACATACATGTGGATGCACATATAAACA TGCACATACACACACATAAATG CACAAACACACTTAACACAAGCACACATGCAAAACAAA CACATGG	6892
TEE-279	TAGAAGGAATTTGATACATGCTCAGAAATACAGGCAAA GGAAGTAGGTGCCTGCCAGTGAAC ACAGGGGAAGTATGGCTCCTA	6893
TEE-280	TGACTAAACAGAGTTGAACAAGAACAAAAAGCAAATT TGCAGAAATGAAATACATACTAATT GAAAGTCCATGGACAGGCTCAACAGATGATATAGATAC AGCTAAAGAGATAATTAGTGAAAT GGATCAG	6894
TEE-281	AAGTAATAAGACTGAATTAGTAATACAAAGTGTCTCAA CAAAGAAAATTGCGGGACTGTTCA TGCTCATGGACAGGAAGAATCAATATCATGAAAATGGC	6895

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 1 8】

	C	
TEE-282	ACAGACAGAGATTAAAAACAATAAAACAAGCAGTAAGCA AACACAGATAACAAAATGACATG ATCCAACAAATACTCAGAAGGAGACTTAGAAATGAATT GAGGGTC	6896
TEE-283	AGAAAAAACAACAGCCCATTAAGGTAGACAAAG GACATGAACACTTTTCAAAAAGAAG ACATACATGTGGCCAAACAGCATG	6897
TEE-284	AAAAATGACCAGAGCAATAGAATGCATTGACCAGATAA AGACCTTCACGTATGTTGAACTAA AATGTGTGGTGCAGGTG	6898
TEE-285	AATCAGTCTAGATCTTAAAGGAACACCAGAGGGAGTAT TTAAATGTGCCAATAAGCAAGAA TTATGGTGATGTGGAAGTA	6899
TEE-286	GAATGGAATGGAAAGGAATCGAAACGAAAGGAATGGA GACAGATGGAATGGAATGGAACAG AGAGCAATGG	6900
TEE-287	GGAATGGAATGAACACGAATGTAATGCAACCCAATAGA ATGGAATCGAATGGCATGGAATAT AAAGAAATGGAATCGAAGAGAATGGAAACAAATGGAA TGGAATTG	6901
TEE-288	AGGACATGAATAGACAATTCTCAAAAGAAGATACACAA GTGGCAAACAAACACATGAAAAA AGACTCAACATTAGTAATGACCATGGAAATGCAAATC	6902
TEE-289	TCCAGTCGATCATATAGTCAGCACTTATCATAACCC AAGCCGTCTGCAAGGAAAGGGAA TACAACCATGAACATGATAGTGGATGGTT	6903
TEE-290	TACAGATAAGAAAATTGAGACTCAAGAGTATTACATAA ATTGTTTCAGCTACCACAGCAAAA AATGGTATGGTTGGGAATCAAGCTCAGGG	6904
TEE-291	AGCCTATCAAAAAGTGGGCTAAGAATATGAATACACAA TTCTCAAAAGAAGATATACAAATG GGCAACAAACATATGAAAACATACTCAACATCACTAAT GATCAGGGAAATG	6905
TEE-292	GAAAATGAACAATATGAACAAACAAACAAAATTACTAC CCTTACGAAAGTACGTGCATTCTA GTATGGTGACAAAAAGGAAAG	6906
TEE-293	ACATACGCAAATCAATAAACATAATCCATCACATAAACA GAACCAAAGACAAAAATCACATG ATTATCTCAATAGATGCAGAAAAGGCCTTCGAC	6907
TEE-294	AAGAGTATCAACAGTAAATTACATTAGCAGAAGAATCA ACAAACATGAAAATAGAAATTATG CTAGCCAAAGAACAG	6908
TEE-295	AATCGAATGGAATCAACATCAAACGAAAAAACGGA	6909

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 1 9】

	ATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	
TEE-296	GAAAGGAATAGAATGGAATGGATCGTTATGGAAA GAC ATCGAATGGGATGGAATTGACTCGAATGGATTGGACT GGAATG GAACGGACTCGAATGGAATGGACTGGAATG	6910
TEE-297	TAAGCAATTTGAGCAGTCTCAGGATACAAAATCAATGT GCAAAAATCACAAGCATTCTTATACACCAACAACAGAC AAAC AGAGAGCCAAATCG	6911
TEE-298	AACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAGA GAATCATCGAATGGCCACGAATGGAATCATCTAATGGA ATGG AATGGAATAATCCATGGACCCGAATG	6912
TEE-299	ACATCAAACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATC GAAAAGAATCATCGAACGGACTCGAATGGAATCATCTA ATGG AATGGAATGGAAG	6913
TEE-300	ATCGAATGGAATCAACATCAAACGGAATGGAATGGAAT TTATCAAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	6914
TEE-301	GAATAATCATTTGAACGGAATCGAATGGAAACATCATCG AATGGAAACGAATGGAATCATCATCGAATGGAAATGAA AGG AGTCATC	6915
TEE-302	CATCAAACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATCG AAAAGAATCATCGAACGGACTCGAATGGAATCATCTAA TGGA ATGGAATGGAAGAATCCATGGACTCGAATG	6916
TEE-303	AAACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAG AGAATCATCGAATGGACTCGAATGGAATCATCTAATGG AATGG AATGGAAGAATCCATGG	6917
TEE-304	ATACACAAATCAATAAATGTAATCCAGCATATAAACAGA ACCAAAGACAAAACCATATGATTATCTCAATGGATGC AGA AAAGGCC	6918
TEE-305	AATCGAATAGAATCATCGAATGGACTCGAATGGAATCA TCGAATGTAATGATGGAACAGTC	6919
TEE-306	TGGAATGGAATCATCGCATAGAATCGAATGGAATTACC ATCGAATGGGATCGAATGGTATCAACATCAAACGCAAA AAAA CGGAATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCTTCGAACG GACCCG	6920
TEE-307	ATGGAATGGAATGGAATGGAATTAATGGAATGGAAA GGAATGGAATCGAATGGAAGGAATC	6921

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 2 0】

TEE-308	GTGGAATGAATGAATGCAATCATCATCAAATGGAAT CCAATGGAATCATCATCAAATGAATCGAATGGAATCA TCAA ATGGAATCGAATGGAGTCATTG	6922
TEE-309	TGGAATTATCGAAAAGCAAACGAATAGAATCATCGAATG GACTCGAATGGAATCATCGAATGGAATGGAATGGAAC AG	6923
TEE-310	AAAGGAATGGAATGCAATGGAATGCAATGGAATGCAC AGGAATGGAATGGAATGGAATGGAAGGAATG	6924
TEE-311	AATCTAATGGAATCAACATCAAACGGAACAAAAACGGAA TTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	6925
TEE-312	TACACAACAAAAAGAAATACTCAACACAGTAAACAGACA ACCTTCAGAACAGGAGAAAAATTTGCAAATACATCTA ACAA AGGGCTAATATCCAGAATCT	6926
TEE-313	TGCAATCCTAGTCTCAGATAAAACAGACATTAAACCAA CAAAGATCAAAAGAGACAAAGAAGGCCATTAC	6927
TEE-314	GAATCGAATGGAATCAACATCAAACGGAACAAAAACGG AATTATCGAATGGAATCGAAAAGAATCATCGAATGGAC C	6928
TEE-315	AATGGAATCGAATGGAATGCAATCCAATGGAATGGAAT GCAATGCAATGGAATGGAATCGAACGGAATGCAGTGG AAGG GAATGG	6929
TEE-316	GAACACAGAAAAATTTCAAAGGAATAATCAACAGGGAT TGATAACTAACTGGATTTAGAGAGCCAAGGCAAGAG AATC AAAGCACAGGGCCTGAGTCGGAG	6930
TEE-317	AGTTGAATAGAACCAATCCGAATGAAATGGAATGGAAT GGAACGGAATGGAATTGAATGGAATGGAATGGAATGC AATG GA	6931
TEE-318	AACTCGATTGCAATGGAATGTAATGTAATGGAATGGAA TGGAATTAACGCGAATAGAATGGAATGGAATGTAATGG AACG GAATGGAATG	6932
TEE-319	AAGCGGAATAGAATTGAATCATCATTGAATGGAATCGA GTAGAATCATTGAAATCGAATGGAATCATAGAATGGAA TCCA AT	6933
TEE-320	AATGGAATCGAAAGGAATAGAATGGAATGGATCGTTAT GGAAAGATATCGAATGGAATGGAATTGACTCGAATGG AATG GACTGGAATGGAACG	6934

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 2 1】

TEE-321	TAACGGAATAATCATCGAACAGAATCAAATGGAATCAT CATTGAATGGAATTGAATGGAATCTTCGAATAGACATG AATG GACCATCATCG	6935
TEE-322	AACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAATAG AATCATCGAACGGAATCGAATGGAATCATCTAATGGAA TGGA ATGGAAG	6936
TEE-323	ATTGGAATGGAACGGAACAGAACGGAATGGAATGGAA TAGAATGGAATGGAATGGAATGGTATGGAATGGAATG GAATG GTACG	6937
TEE-324	AATCCACAAAGACAACAGAAGAAAAGACAACAGTAGA CAAGGATGTCAACCACATTTTGGAAGAGACAAGTAATC AAAC ACATGGCA	6938
TEE-325	GAATCGAATGGAATCAACATCAAACGGAAGAAAAACGG AATTATCGAATGGAATCGAAAAGAATCATCGAACGGAC TCGA ATGGAATCATCTAATGGAATGGAATGGAAGAATCCATG G	6939
TEE-326	AATGGAATCGAATGGAATCATCATCAAATGGAATCTAA TGGAATCATTGAACGGAATTGGATGGAATCGTCAT	6940
TEE-327	CAACATCAAACGGAAGAAAAACGGAATTATCGAATGGA ATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	6941
TEE-328	CACAACCAAAGCAATGAAAGAAAAGCACAGACTTATT GAAATGAAAGTACACACCACAGAATGGGAGCAGGCTC AAGCA AGC	6942
TEE-329	ATCAAAGGGAATCAAGCGGAATTATCGAATGGAATCGA AGAGAATCATCGAATGGACTCGAATGGAATCATGTGAT GGA ATGGAATGGAATAATCCACGGAAT	6943
TEE-330	GGAATCGAATGGAATCAATATCAAACGGAGAAAAACG GAATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGA CC	6944
TEE-331	AGGAATGGACACGAACGGAATGCAATCGAATGGAATG GAATCTAATGAAAGGAATTGAATGAAATGGACTGG	6945
TEE-332	GGAAGGGAATCAAATGCAACAGAATGTAATGGAATGG AATGCAATGGAATGCAATGGAATGGAATGGAATGCAAT GGAA TGG	6946
TEE-333	AAATTGGATTGAATCGAATCGAATGGAAGAAAAATGAAAT CAAATGAAATTGAATGGAATCGAATGGAATGTAACAA	6947

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 2 2】

	TGG AATCCAATGGAATCCAATGGAATCGAATCAAATGGTTT TGAGTGGCGTAAATG	
TEE-334	AATGGAAGGGAATGGAATGGAATCGAATCGAATGGAA CAGAATTCAATGGAATGGAATGGAATGGAATGGAATC GAATG GAATGG	6948
TEE-335	GAAAAATCATTGAACGGAATCGAATGGAATCATCATCG GATGGAACGAATGGAATCATCATCGAATGGAAATGAA AGG AGTCATC	6949
TEE-336	GGAATCGAATGGAATCAACATCAAACGGAGAAAAACG GAATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGA CC	6950
TEE-337	AAAGAAATGTCACCTGCGTATACACACACGCACATAC ACACCCATGGAATACTACTCAGCTATACAAAGGAATG AAAT AATCCACAGCCAC	6951
TEE-338	GGAATCGAATGGAATCAATATCAAACGGAAAAAACG GAATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGA CC	6952
TEE-339	TGAACGGAATCGAATGGAATCATCATCGGATGGAAAC GAATGGAATCATCATCGAATGGAAATGAAAGGAGTCAT C	6953
TEE-340	GAATAGAACGAAATGGAATGGAATGGAATGGAATGGA AAGGAATGGAATGGAATGGAACG	6954
TEE-341	TGGAATTATCGTCGAATAGAATCGAATGGTATCAACAT CAAACGGAAAAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAA GAGA ATCATCGAACGGACTCGAATGGAATCATCTAATGGAAT GGAATGGAATAATCCATGG	6955
TEE-342	GACAAAAAGAATCATCATCGAATAGAATCAAATGGAAT CTTTGAATGGACTCAAAAGGAATATCGTCAAATGGAAT CAAA AGCCATCATCGAATGGACTGAAATGGAATTATCAAATG GACTCG	6956
TEE-343	AACCAAACCAAGCAAAACAAACAAACAGTAAAACTCA ATAACAACCAACAAACAGGAAATACCAGGTAATTGAGA TTAT CTAGTTATGTGCCATAGT	6957
TEE-344	GAATGAATTGAATGCAAAACATCGAATGGTCTCGAATGG AATCATCTTCAAATGGAATGGAATGGAATCATCGCATA GAAT CGAATGGAATTATCAACGAATGGAATCGAATGGAATCA	6958

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 2 3】

	TCATCAGATGGAAATGAATGGAATCGTCAT	
TEE-345	TGGAATGGAATCAAATCGCATGGAATCGAATGGAATAG AAAAGAATCAAACAGAGTGAATGGAATGGAATGGAA TGGA ATCATGCCGAATGGAATG	6959
TEE-346	AAATGGAATAATGAAATGGAATCGAACGGAATCATCAT CAAAGGAACCGAATGAAGTCATTGAATGGAATCAA GGCA ATCATGGTCGAATGGAATCAAATGGAAACAGCATTGAA TAGAATTGAATGGAGTCATCACATGGAATCG	6960
TEE-347	GAATTAACCCGAATAGAATGGAATGGAATGGAATGGAA CAGAACGGAACGGAATGGAATGGAATGGAATGGAATG GAAT G	6961
TEE-348	AAGATATACAAGCAGCCAAACAAACATACGAAAAGATGC TCAACATCACTAATCCTCAGAGAAATTTAAATCAAAC CACA ATGAGTTACAATCTCATACCAGTCAGAAT	6962
TEE-349	AGATAAGTGGATGAACAGATGGACAGATGGATGGATG GATGGATGGATGGATGGATGCCTGGAAGAAAGAA TGGAT AGTAAGCTGGGTATA	6963
TEE-350	AGAATTACAAACCACTGCTCAACAAAATAAAAGAGTAC ACAAACAAATGGAAGAATATTCCATGCTTATGGATAGG AAGA ATCAATATTGTGAAAATGGCCATACT	6964
TEE-351	CATCGAATGGACTCGAATGGAATAATCATGGAACGGAA TCGAAGGGAATCATCATCGGATGGAACGAATGGAAT CATCA TCGAATGGAAATG	6965
TEE-352	AAAGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAAA GAATCATCGAACGGACTCGAATGGAATCATCTAATGGA ATGG AATGGAAGAATCCATGGACTCGAATG	6966
TEE-353	GGATATAACAAGAAAACAATAATCACAACCTCAATAT CAAAGTGCAATGATGGTGCAAAATGCAAGTATGGTGG GGAC AGAGAAAGGATGC	6967
TEE-354	AACATCAAACGGAAAAAACGGAATATCGAATGGAAT CGAAGAGAATCATCGAATGGACC	6968
TEE-355	TAAATGGAATCGAATGGAATCAACATCAAATGGAATC AAATGGAATCATGGAACGGAATTGAATGGAATCGTCAT	6969
TEE-356	AATCATCATCGAATGGAATCGAATGGTATCATTTGAATG GAATCGAATGGAATCATCATCAGATGGAAATGAATGGA	6970

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 2 4】

	ATCG TCAT	
TEE-357	CAATGCGTCAAGCTCAGACGTGCCTCACTACGGCAAT GCGTCAAGCTCAGGCGTGCCTCACTAT	6971
TEE-358	TAAGCTGATAAGCAACTTTAGCAAAGTCTCAGGATACA AAATCAATGTACAAAAATCACAAAGCATTCTTATACACC AACA ACAGACAGACGGAGAGCCAAA	6972
TEE-359	AATCAAAGAATTGAATCGAATGGAATCATCTAATGTAC TCGAATGGAATCACCAT	6973
TEE-360	ATGAACACGAATGTAATGCAATCCAATAGAATGGAATC GAATGGCATGGAATATAAAGAAATGGAATCGAAGAGA ATGG AAACAAATGGAATGGAATTGAATGGAATGGAATTG	6974
TEE-361	ATCAAACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATCGA AGAGAATCATCGAACGGACTCGAATGGAATCATCTAAT GGAA TGGGATGG	6975
TEE-362	AATGGAAAGGAATCAAATGGAATATAATGGAATGCAAT GGACTCGAATGGAATGGAATGGAATGGACCCAAATGG AATG GAATGGAATGGAATG	6976
TEE-363	GGAATACAACGGAATGGAATCGAAAAAATGGAAAGG AATGAAATGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGGATG GGAA TGGAAATGGAATGG	6977
TEE-364	GAATCAAGCGGAATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATC ATCGAAAAGGACTCGAATGGAATCATCTAATGGAATGGA ATG GAATAATACACGGACC	6978
TEE-365	AAGATAACCTGTGCCAGGAGAAAAACAATCAATGGC AACAAAAAGCAGAAACAACAAAATGATACAATTAGCAG ACAG AAACATTGAGATTGCTATT	6979
TEE-366	AATGGACTCCAATGGAATAATCATTGAACGGAATCTAA TGGAATCATCATCGGATGGAATGAGTGAATCATCAT CGAA TGGAATCG	6980
TEE-367	AATCTATAAACGTAATCCATCACATAAACAGGACCAAA GAGAAAAACCGCATGATTATCTCAAGAATGCAGAAAA GGCC	6981
TEE-368	TAATTGATTGCAAATTAATGGAATTGAATGGAATGCAA TCAAATGGAATGGAATGTAATGCAATGGAATGTAATAG AATG	6982

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 2 5】

	GAAAGCAATGGAATG	
TEE-369	AAAGGAATGGACTTGAACAAAATGAAATCGAACGATA GGAATCGTACAGAACGGAAAGAAATGGAACGGAATGG AATG	6983
TEE-370	TGAGCAGGGAACAATGCGGATAAAATTCACAAATACAA TGTTGAGCAAAAAGAAAGACACAAAAGAATACACACAT ACAC ACCATATGGGCTAGG	6984
TEE-371	AATGGAATCGAACGGAATCATCATCAAACGGAACCGA ATGGAATCATTGAATGGAATCAAAGGCAATCATGGTCG AATG	6985
TEE-372	AATGGAATGGAATGTACAAGAAAGGAATGGAATGAAA CCGAATGGAATGGAATGGACGCAAAATGAATGGAATG GAAAT CAATGG	6986
TEE-373	AACGGAAAAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAGA GAATCATCGAATGGACC	6987
TEE-374	GGAATAATCATTGAACGGAATCGAATGGAATCATCATC GGATGGAACGAATGGAATCATCATCGAATGGAATG AAAG GAGTCATC	6988
TEE-375	GGAACGAAATCGAATGGAACGGAATAGAATGACTCG AATGTAATGGATTGCTATGTAATTGATTGGAATGGAAT GGAAT CG	6989
TEE-376	TGAAAGGAATGACTGGAACAAAATGAAATCGAATGG TAGGAATCATACAGAACAGAAAGAAATGGAACGGAAT GGAAT G	6990
TEE-377	AACCCGAATAGAATGGAATGGAATGGAATGGAACGGA ACGGAATGGAATGGAATGGATTGGAATGGAATGGAAT G	6991
TEE-378	AAAGAGAATCAAATGGAATTGAATCGAATGGAATCGAA TGGATTGGAAGGAATAGAATGGAATGGAATGGAATG GAAT GGAATGGAATG	6992
TEE-379	AATGGAATCATCAGTAATGGAATGGAAGGAATGGAA AGGACTGGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGG	6993
TEE-380	GGAACAAAATGAAATCGAACGCTAGGAATCGTACAGA ACGGAAAGAAATGGAACGGAATGGAATGCACTCAAAT GGAAA GGAGTCCAATGGAATCGAAAAGGAATAGAATGGAATGG	6994
TEE-381	AGAATGAGATCAAGCAGTATAATAAAGGAAGAAAGTAGC AAAATTACAACAGAGCAGTGAAATGGATATGCTTTCTG	6995

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 2 6】

	GCA ATAATTGTGAAAGGTCTGGTAATGAGAAAGTAGCAACA GCTAGTGGCTGCCAC	
TEE-382	AACAAATGGAATCAACATCGAATGGAATCGAATGGAAA CACCATCGAATTGAAACGAATGGAATTATCATGAAATT GAAA TGGATGGACTCATCATCG	6996
TEE-383	TAACATGCAGCATGCACACACGAATACACAACACACAA ACATGTATGCACGCACACGTGAATACACAACACACACA AACA TGCATGCATGCATACATGAATACACAGCACACAAATAT CCAGCAT	6997
TEE-384	GAATGGAATCAACATCAAACGGAAAAAAGCGAATT ATCGAATGGAATCGAATAGAAATCATCGAATGGACC	6998
TEE-385	AATCGAATGAAATGGAGTCAAAAGGAATGGAATCGAA TGGCAAGAAATCGAATGTAATGGAATCGCAAGGAATT GATGT GAACGGAACGGAATGGAAT	6999
TEE-386	AATGGAATTGAACGGAAACATCAGCGAATGGAATCGA AAGGAATCATCATGGAATAGATTGGAATGGAATGGAAA GGAA TGGAAATGGAATG	7000
TEE-387	ATGGAATCAACATCAAACAGAATCAAACGGAATTATCG AATGGAATCGAAGACAATCATCGAATGGACTCGAATG GAATC ATCTAATGGAATGGAATGGAAGAATCCATGGTCTCGAA TGCAATCATCATCG	7001
TEE-388	GAATAATCATTGAACGGAATCGAATGGAATCATCTTCG GATGGAAACGAATGGAATCATCATCGAATGGAAATGAA AGGA GTCATC	7002
TEE-389	AATGGACTCGAATGGAATAATCATTGAACGGAATCGAA TGGAATCATCATCGGATGGAAATGAGTGGAAATCATCAT CGAA TGGAATCG	7003
TEE-390	AAATGAAATCGAACGGTAGGAATCGTACAGAACGGAA AGAAATGGAACGGAATGGAATGCAATCGAATGGAAAG GAGTC CAATGGAAGGGAATCGAAT	7004
TEE-391	TACCAAACATTAAAGAACAATATCAATCCTACGCAA ACCATCTGAAACACAGAGATGGAGGATATACAGCGA AACTC ATTCTACATGGCC	7005
TEE-392	TATTGGAATGGAATGGAATGGAGTCGAATGGAACGGA	7006

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 2 7】

	ATGCACTCGAATGGAAGGCAATGCAATGGAATGCACT CAACA GGAATAGAATGGAATGGAATGGAATGG	
TEE-393	GGAATTTAATAGAATGTACCCGAATGGAACGGAATGGA ATGGAATTGTATGGCATGGAATGGAA	7007
TEE-394	GCAATCCAATAGAATGGAATCGAATGGCATGGAATATA AAGAAATGGAATCGAAGAGAATGGAGACAAATGGAAT GGAA TTGAATGGAATGGAATTG	7008
TEE-395	AATGGAATCGAATGGAATCATCATCAAATGGAATCTAA TGGAATCATTGAACGGAATTAATGGAATCGTCATCGA ATGA ATTCATGCAATCAACGAATGGTCTCGAATGGAACCCAC	7009
TEE-396	AATTGCAAAAGAAACACACATATACACATATAAACTC AAGAAAGACAAACTAACCTATGGTGATAGAAATCAGA AAA GTACAGTACATTGGTTGTCTTGGTGGG	7010
TEE-397	TGACATCATTATTATCAAGAAACATTCTTACCACTGTTA CCAACTTCCCAACACAGACTATGGAGAGAGAGATAAG ACAGA ATAGCATT	7011
TEE-398	AAAGAATTGAATTGAATAGAATCACCAATGAATTGAAT CGAATGGAATCGTCATCGAATGGAATCGAAGGGAATC ATTGG ATGGGCTCA	7012
TEE-399	ATCATCGAATGGAATCGAATGGAATCAATATCAAACGG AAAAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAATAGAATCA TCGA ATGGACC	7013
TEE-400	GAATGAAATCGTATAGAATCATCGAATGCAACTGAATG GAATCATTAAATGGACTTGAAAGGAATTATTATGGAAT GGAA TTG	7014
TEE-401	TAAGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAAATCAAT GTGCAAAAATCTCAAGCATTCTTATACACGAACAACAG ACAA ACAGAGAGCT	7015
TEE-402	ACTCAAAAGGAATTGATTGGAATGGAATAGAATGGCAA GGAATAGTATTGAATTGAATGGAATGGAATGGACCCAA ATG	7016
TEE-403	GAATGGAATTTAAAGGAATAGAATGGAAGGAATCGGAT GGAATGGAATGGAATAGAATGGAGTCGAATGGAATAG AATC GAATGGAATGGCATTG	7017

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 2 8】

TEE-404	TGAGAAAATGATGAAAAAGAGGAATAAACGAAACAA AACCACAGGAACACAGGTGCATGTGAATGTGCACAGACAAA GATACAGGGCGGACTGGGAAGGAAGTTTCTGCACCAG AATTTGGGG	7018
TEE-405	AACAAAAAATGAGTCAAGCCTTAAATAAAATCAGAGCC AAAAAGAAGACATTACATCTGATAAGACAAAAATTCAAAG GACCATC	7019
TEE-406	AACCCAGTGGAATTGAATTGAATGGAATTGAATGGAAT GGAAAGAATCAATCCGAGTCGAATGGAATGGTATGGAATGGA ATGGA ATGGCATGGAATCAAC	7020
TEE-407	ATCAACATCAAACGGAACAAAAACGGAATTATCGAATG GAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7021
TEE-408	AAGGAATGGAATGGTACGGAATAGAATGGAATGGAAC GAATTGTAATGGAATGGAATTTAATGGAACGGAATGGAATGG ATGG AATGGAATCAACG	7022
TEE-409	AACGGAATGGAAGCAATTTAATCAAATGCAATACAGT GGAATTGAAGGGAATGGAATGGAATGGC	7023
TEE-410	AATCGAATGGAACGGAATAGAATAGACTCGAATGTAAT GGATTGCTATGTAATTGATTGGAATGGAATGGAATCGAATGG AATGCAATCCAATGGAATGGAATGCAATGCAATGGAATGGAAT GGAATCGAACGGAATGCAGTGGGAAGGGAATGG	7024
TEE-411	TAGCAACATTTTAGTAACATGATAGAAACAAAAACAGCA ACATAGCAATGCAATAGTAACACAACAGCAACATCATAACAT GGCAGCA	7025
TEE-412	AATGGAATCGAAGAGAATGGAAACAAATGGAATGGAA TTGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGGGAAGGAATGGAGTG	7026
TEE-413	AGCAAACAAGTGAATAACAAGCAAACAAGTGAACAA GCAAACAAGTGAATAACAAGCAAACAAGTGAACAAGCAAA CAAGTGAATAACAAGCAAACAAGTGAACAAGGAAAC AAGTGAATAACAAGGCTCT	7027
TEE-414	AATGGAATCAACACGAGTGAATTGAATGGAATCGAAT GGAATGGAATGGAATGGAATGAATTCAACCCGAATGGAATG GAAAGGAATGGAATC	7028
TEE-415	GAATCGAATGGAATCAACATCAAACGGAACAAAAACGG AATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGAC	7029

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 2 9】

	C	
TEE-416	AACACGAATGTAATGCAATCCAATAGAATGGAATCGAA TGGCATGGAATATAAAGAAATGGAATCGAAGAGAATG GAAA CAAACGGAATGGAATTGAATGGAATGGAATTGAATGG AATGGGAACGAATGGAGTGAAATTG	7030
TEE-417	GAATGGAACGGAATAGAACAGACTCGAATGTAATGGA TTGCTATGTAATTGATTCGAATGGAATGGAATCGAATG GAATG CAATCCAATGGAATGGAATGCAATGCAATGGAATGGAA TCGAATGGAATGCAGTGGAAGGGAATGG	7031
TEE-418	GAATCGAATGGAATCAATATCAAACGGAACAAAAACGG AATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGAC C	7032
TEE-419	ATAACATCAAACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGG AATCGAAGAGAATAATCGAATGGACTCAAATGGAGTCA TCTA ATGGAATGGTATGGAAGAATCCATGGACTCCAACGCA ATCATCAGCGAATGGAATC	7033
TEE-420	AAAAGAAAAGACAAAAGACCAATTGCCAATACTGA AATGAAAAAACAGTAATAACTATTGATCCCATGGACA TTAA AATGATGTTGAAGGAACACCAC	7034
TEE-421	AATGTCAAGTGAATCGAGTGGAATCATCGAAAGAAA TCGAATGGAATCGAAGGGAATCATTGATGGGCTCAA AT	7035
TEE-422	ATCATCGAATGGAATAGAATGGTATCAACATCAAACGG AGAAAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCT TCGA ACGGACC	7036
TEE-423	GAATGGAATCATCGCATAGAATCGGATGGAATTATCAT CGAATGGAATCGAATGGTATCAACATCAAACGGAACAAA AACG GAATTATCGAATGGAATCGAATTGAATCATCGAACGGA CCCG	7037
TEE-424	AATGGACTCGAATGGAATAATCATTGAACGGAATCGAA TGGAATCATCATCGGATGGAAATGAATGGAATAATCCA TGGA CTCGAATGCAATCATCATCGAATGGAATCGAATGGAAT CATCGAATGGACTCG	7038
TEE-425	AATGCAATCATCAACTGGCTTCGAATGGAATCATCAAG AATGGAATCGAATGGAATCATCGAATGGACTC	7039
TEE-426	AAGAGACCAATAAGGAATAAGTAAGCAACAAGAGGAA GGAGAAAAGGCAAGAGAGATGACCAGAGTT	7040

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 3 0】

TEE-427	TGGAATCATCATAAAATGGAATCGAATGGAATCAACAT CAAATGGAATCAAATGGAATCATTGAACGGAATTGAAT GGAA TCGTTCAT	7041
TEE-428	GGAATCATCGCATAGAATCGAATGGAATTATCATCGAA TGGAATCGAATGGAATCAACATCAAACGAAAAAAAC CGGA ATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAACGGACC	7042
TEE-429	AAATCATCATCGAATGGGATCGAATGGTATCCTTGAAT GGAATCGAATGGAATCATCATCAGATGGAAATGAATGG AATC GTCAT	7043
TEE-430	GGAATGTAATAGAACCGGAAAGCAATGGAATGGAACGC ACTGGATTCGAGTGCAATGGAATCTATTGGAATGGAAT CGAAT GGAATGGTTTGGCATGGAATGGAC	7044
TEE-431	AAACAATGGAAGATAATGGAAAGATATCGAATGGAATA GAATGGAATGGAATGGACTCAAATGGAATGGACTTTAA TGG AATGG	7045
TEE-432	GGAACGAAATCGAATGGAACGGAATAGAATGACTCG AATGTAATGGATTGCTATGTAATTGATTGGAATGGAAT GGAAT CGAATGGAATGCAATCCAATGGAATGGAATGCAATGCA ATGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGGAA	7046
TEE-433	AAACCGAATGGAATGGAATGGACGCAAAATGAATGGA ATGGAAAGTCAATGGACTCGAAATGAATGGAATGGAAT GGAAT GGAATG	7047
TEE-434	GGAATCGAATGGAATCAACATCAAACGAAAAAAACA GAATTATCGTATGGAATCGAATAGAATCATCGAATGGA CC	7048
TEE-435	CAACCCGAGTGAATAAAATGGAATGGAATGGAATGA AATGGAATGGATCGGAATGGAATCCAATGGAATCAACT GGAA TGGAATGGAATGGAATG	7049
TEE-436	TATCATCGAATGGAATCGAATGGAATCAACATCAAACG GAAAAAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAGAGAAT CATC GAATGGACC	7050
TEE-437	CGGAATAATCATTGAACGGAATCGAATGGAATCATCAT CGGATGGAAACGAATGGAATCATCATCGAATGGAAAT GAAAG GAGTCATC	7051

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 3 1】

TEE-438	CAACACACAGAGATTAAACAAAACAAAACAATCCA GCCCTGACATTTATGAGTTTACAGACTGGTGGAGAGG CAGAG AAG	7052
TEE-439	CACTACAAACCACGCTCAAGGCAATAAAGAACACAA ACAAATGGAAAAACATTCCATGCTCATGGATGGG	7053
TEE-440	AATCGAATGGAATTAACATCAAACGGAAAAAACGGA ATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7054
TEE-441	TGGAAAAGAATCAAATTGAATGGCATCGAACGGAATG GGATGGAATGGAATAGACCCAGATGTAATGGACTCGA ATGGA ATG	7055
TEE-442	GACTAATATTCAGAATATACAAGGAACCTAAACAACTC AACAGTAGAAAAAAAACCTGAATAGACATTTCTCAA AGAA GACATACAAATGGCC	7056
TEE-443	GGTCCATTCGATGATTCTCTTCGATTCCATTCGATAATT CCGTTTTTTCCCGTTTGATGTTGATTCC	7057
TEE-444	GGAACGAAATCGAATGGAACGGAATAGAATAGACTCG AATGTAATGGATTGCTATGTAATTGATTGGAATGGAAT GGAAT CGAATGGAATGCAATCCAATGGAATGGAATGCAATGCA ATGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGGA	7058
TEE-445	AGCAACTTCAGTAAAGTGTGAGGATACAAAATCAATGT GCAAAAATCACAGCATTCTTATACATCAATAACAGAC AAAC AGAGAGCCAAA	7059
TEE-446	GAATAATCATTGAACGGAATCGAATGGAATCATCATCG GATGGAAACGAATGGAATCATCATCGAATGGAAATGAA AGG AGTCATC	7060
TEE-447	TAATCATCTTCGAATTGAAAAACAAAGCAATCATTAAT GTACTCTAACGGAATCATCGAATGGACC	7061
TEE-448	GGAATCGAATGGAATCAACATCAAACGGAAAAAACG GAATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGA CC	7062
TEE-449	AGAGAAAAGATGATCATGTAACCATTTGAAAAGACAATG TACAAAACATAACTAATCACACAGGACCAGAAAGCAA TTTA GACCAT	7063
TEE-450	AATGGAATCGAATGGAATCAACATCAAACGGAAAAAAC CGGAATTATCGAATGGAATCAAAGAGAATCATCGAATG GACC	7064
TEE-451	AATGGAATTATCATCGAATGGAATCGAATGGAATCAAC	7065

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 3 2】

	ATCAAACGGAAAAAACGGAATTATCGAATGGAATCGA AGA GAATCATCGAATGGACC	
TEE-452	GTCAACACAGGACCAACATAGGACCAACACAGGGTCA ACACAGGACCAACATAGGACCAACACAGGGTCAACAC AAGAC CAACATGGGACCAACACAGGGTCAACATAGGACCAAC ATGGGACCAACACAGGGTCAACACAGGACCAAC	7066
TEE-453	GAATCAACTCGATTGCAATCGAATGGAATGGAATGGTA TTAACAGAATAGAATGGAATGGAATGGAATGGAACGG AACG	7067
TEE-454	ACTCGAATGCAATCAACATCAAACGGAATCAAACGGA ATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAACGGACT CGAAT GGAATCATCTAATGGAATGGAATGG	7068
TEE-455	AATGGAATGGAATAATCGACGGACCCGAATGCAATCAT CATCGTACAGAATCGAATGGAATCATCGAATGGACTGG AATG GAATGG	7069
TEE-456	AATCAAAACCACTGCTCAACGAAATAAAAAGAGATACA AACAAATGGAAGAACATTCTATGCTCATGGGTAGGATG AATT CATATCGTGAAAATGGCCATACTGCC	7070
TEE-457	AAACACGCAAACACACACAAGCACACTACCACACA AGCGGACACACATGCAAACACGCGAACACACACACAT ATACA CACAAGCACATTACAAAACACAAGCAAACACCAGCAG ACACACAAACACACAAACATACATGG	7071
TEE-458	AATCGAACGGAATCAACATCAAACGGAAAAAAAACGG AATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGAC C	7072
TEE-459	TAATTGATTGGAATGGAATGGAATAGAATGGAATTGAA TGGAATGGACCATAATGGATTGGACTTTAATAGAAAGG GCAT G	7073
TEE-460	AGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAAATCAATGT ACAAAAGTCACAAGCATTCTTATACACCAACAAAAGAC AAAC AGAGAGCC	7074
TEE-461	ACATCAAACGGAAAAAAAACAAAACGGAATTATCG AATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7075
TEE-462	GAAATTCCAATTAAAAATGAAATCGACTTATCTTAACAA ATATAGCAATGCTGACAAACACTTCTCCGGATATGGGTA CTGCT	7076

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 3 3】

TEE-463	ACATCTCACTTTTAGTAATGAACAGATCATTGACACAG AAAATTAGCAAAGAAACATCAGAGTTAAACTACACTCT AAAC CAAATGGACCTA	7077
TEE-464	GAAGAAAGCATTTCATTCAAGACATCTAAGTCGTTGATA TAATGCATACAGTTCAAATGATTACACTATCATTACAT CTAG GGCTTTC	7078
TEE-465	ACACACACATTCAAAGCAGCAATATTTACAACAGCCAA AAGGTGGAAACAATTGAGCAATTG	7079
TEE-466	ATCATCGAATAGAATCGAATGGTATCAACACCAAACGG AAAAAACCGAATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCT TCGA ACGGACC	7080
TEE-467	ATCAACATCAAACGGAAAAACCGAATTATCGAATGGA ATCGAAGAGAATCATCGAACGGACC	7081
TEE-468	AATCGAAAGGAATGTCATCGAATGGAATGGACTCAAAT GGAATAGAATCGGATGGAATGGCATCGAATGGAATGG AATG GAATTGGATGGAC	7082
TEE-469	AACATGAACAGTGAACAATCAGTGAACCAATACAAG GGTTAAATAAGCTAGCAATTAAAGCTGTATCACTGGT CTAAA GATAGAAATCAAGTAGAAAATCAGCGCAAGAGGAAA GATATACGAAAACCTAATGGCC	7083
TEE-470	CGAATGGAATCATTATGGAATGGAATGAAATGGAATAA TCAAATGGAATTGAATGGAATCATCGAATGGAATCGAA CAAA ATCCTCTTTGAATGGAATAAGATGGAATCACCAAATGG AATTG	7084
TEE-471	AAGGGAATTGAATAGAATGAATCCGAATGGAATGGAAT GGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGG AATG	7085
TEE-472	GAATGGAATCGAATCAAATTAAATCAAATGGAATGCAA TAGAAGGGAATACAATGGAATAGAATGGAATGGAATG GAAT GGACT	7086
TEE-473	AAACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAG AGAATCATCGAACGGAATCGAATGGAATCATCTAATGG AATG GAATGGAAGAATCCATGGACT	7087
TEE-474	ATGGAATCAACATCAAACGGAACAAAAACCGAATTAT CGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACCAGAA TGGA	7088

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 3 4】

	ATCATCTAATGGAATGGAATGG	
TEE-475	AATGGAATCATCATCGAATGGAATCGAATGGAATCATG GAATGGAATCAAATGGAATCAAATGGAATCGAATGGAA TGG AATGGAATG	7089
TEE-476	AACGGAATCAAACGGAATTACCGAATGGAATCGAATAG AATCATCGAACGGAATCGAATGGAATCATCTAATGGAA TGGAA ATGGAAG	7090
TEE-477	AAACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAAA GAATCATCGAACGGAATCGAATGGAATCATCTAATGGAA ATG GAATGGAAGAATCCATGG	7091
TEE-478	GAATGATACGGAATACAATGGAATGGAACGGAATGAAA TGGAAATGGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGG	7092
TEE-479	ACAGCAAAGAGAGAAATAAAACGACAAGAAAACTACAA AATGCCTATCAATAGTTACTTTAAATATCAGTGGACCAA ATCA GTGAAACAAAAGACACAGAGTGGC	7093
TEE-480	AATGGAATCGAATGGATTAATCATTGAACGGAATCGAA TGGAAATCATCATCGGATGGTAATGAATGGAATCATCAT CGAA TGGAAATCGG	7094
TEE-481	GAATGGAATCGAAAGGAATGTCATCGAATGGAATGGA ATGGAACGGAATGGAATCGAATGGAATGGAATCGAAT GGAAT AGAATCGAATGCAATGGCATCG	7095
TEE-482	ATCGAATGGAATCAACATCAGACGGAAAAAACGGAA TTATCAAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7096
TEE-483	AGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAAATCAATGT GCAAAAATCAAAAGCATTCTTATGCACCAATAACAGAC ACAG AGCCAAAT	7097
TEE-484	AATGGAATGGAACGCAATTGAATGGAATGGAATGGAA CGGAATCAACCTGAGTCAAATGGAATGGAATGGAATG GAATG	7098
TEE-485	GGAACGAAATCGAATGGAACGGAATGAATGACTCG AATGTCATGGATTGCTATGTAATTGATTGGAATGGAAT GGAAT CG	7099
TEE-486	TAGCAGGAAACAGCAAACCTCAAATTAAGTAATTTCAAG AGCGTATCATCAATGAACTATTTCAAAGATGTGGGCA AGAT	7100
TEE-487	GAATTGAAAGGAATGTATTGGAATAAAATGGAATCGAA	7101

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 3 5】

	TAGGTTGAAATACCATAGGTTGGAATTGAATGGAATGG GAGG GACACCAATGGAATTG	
TEE-488	AAGCAACTTCAGCAAAAGTCTCGGGATACAAAATCAATG TGCAAAAATCACAAGCATTCTTATACACCACTAACAGA CAAA TGGAGAGTC	7102
TEE-489	GAATGGAATCAACATCAAACGGAAAAAACGGAATTAT CGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACCAGAA TGGG ATCATCTAATGGAATGGAATGGAATAATCCATGG	7103
TEE-490	AAAAGCAATTGGACTGATTTTAAATATACGTGGCAACA AGGATAAACTGCTAATGATGGGTTTGCAAAATACAGATC G	7104
TEE-491	AATGGAATCAACATCGAACGGAAAAAACGGAATTATC GAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7105
TEE-492	AAACGGAATTATCAAATGGAATCGAAGAGAATCATCGA ACGGACTCGAATGGAATCATCTAATGGAATGGAATGGA AG	7106
TEE-493	TGCAAGATAACACATTTTAGTTGACACCATTGAAAAACA GTTTTAACCAAGAATATTAGAACCAATGAAGCAGAGAA ATCA AAAGGGTGGATGGAATGCCAAAGGATG	7107
TEE-494	TAGAACAGAATTGAATGGAATGGCATCAAATGGAATGG AAACGAAAGGAATGGAATTGAATGGACTCAAATGTTAT GGA ATCAAAGGAATGGACTC	7108
TEE-495	AAGAGAATCATCGAATGGAATCGAATGGAATCAACATC AAACGGAAAAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAG AGAA TCATCGAATGGACC	7109
TEE-496	ATCAACATCAAACGGAAAAAACGGAATTATCGAATGG AATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7110
TEE-497	GAATCAACATCAAACGGAAAAAACCGAATTATCGAAT GGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7111
TEE-498	ATCAACATCAAACGGAAATCAAACGGAATTATCGAATGG AATCGAAGAGAATCATCAAATGGACTCGAATGGAATCA TCTA ATGGAATGGAATGGAAGAATCCATGG	7112
TEE-499	ATCGAATGGAATCATTGAATGGAAAGGAATGGAATCAT CATGGAATGGAAACGAATGGAATCACTGAATGGACTC GAATG GGATCATCA	7113
TEE-500	ATTCAGCCTTTAAAAAAGAAGACAGTCCTGTCATTG	7114

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 3 6】

	TGACAATATGAATGAAACAGACATCACATTAAATGAAATGAG CCAGGCGCAG	
TEE-501	GAATGAAATGAAATCAAATGGAATGTACATGAATGGAA TAGAAAAGAATGCATCTTTCTCGAACGGAAGTGCATTG AATG GAAAGGAATCTACTGGAATGGATTGGAATGGAATGGA ATGGGATGGAATGGTATGG	7115
TEE-502	AACATCAAACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAAT CGAAGAGAATCATCGAACGGAATCGAATGGAATCATC TAATG GAATGGAATGGAAGAATCCATGGACTCGAATGCAATC ATCATCGAATGAAATCGAATGGAATCATCGAATGGACT CG	7116
TEE-503	ATGGAATTCAATGGAATGGACATGAATGGAATGGACTT CAATGGAATGGTATCAAATGGAATGGAATTCAGT	7117
TEE-504	AATGGAAGGAATCGAATGGAAGGGAATGAAATTGAA TCAACAGGAATGGAAGGGAATAGAATAGACGGCAATG GAAT GGACTCG	7118
TEE-505	AGCAACTTCAGCAAAGTATCAGGATACAAAATCAATGT ACAAAATCCCAAGCATTCTTATACACCAACAACAGAC AAAC AGAGAGCC	7119
TEE-506	AGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAAATCGATGT GCAAAAATCACAAGCATTCTTATACACCAACAACAGAT AAAC AGAGAGCC	7120
TEE-507	AACGGAAAAAAGCGGAATTATCGAATGGAATCGAAG AGAATCATCGAATGGACCAGAATGGAATCATCTAATGG AATG GAATGGAATAATCCATGGACTCGAATG	7121
TEE-508	GGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAGAGAAT CATAGAACGGAATCAAATGGAATCATCTAATGGAATGG AAT GGGAGAATCCATGGACTCGAATG	7122
TEE-509	AATGGAATCAATATCAAACGGAAAAAAGCGGAATTATC GAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7123
TEE-510	AACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAAA GAATCATCGAACGGAATCGAATGGAATCATCTAATGGA ATGG AATGGAAGAATCCATGG	7124
TEE-511	AAACGGAATTATCGAATGGAATCAAAGAGAATCATCGA ATGGCCACGAATGGAATCATATAATGGAATGGAATGGA	7125

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 3 7】

	ATA ATCCATGGACC	
TEE-512	AATGGAATCGAATGGATTGATATCAAATGGAATGGAAT GGAAGGGAATGGAATGGAATGGAATTGAACCAAATGT AATG GATTTG	7126
TEE-513	TAAAGACGGAACAGATAGAAAGCAGAAAGGAAAGGT GAATTGCATTACCACTATTCTACTGCCACACACATGA CATTA GGCCAAGTC	7127
TEE-514	AATGGAATCGAATGGAACAATCAAATGGAATCCAATGG AGTCATCTAATGGAATCGAGTGAATCATCGAATGGAC TCG	7128
TEE-515	TAACACATAAACAAACACAGAGACAAAATCTCCGAGAT GTTAATCTGCTCCAGCAATACAGAACAATTTCTATTAC CAAC AGAATGCTTAATTTTCTGCCT	7129
TEE-516	GGAATCGAATGGAATCAACATCAAACGGAAGAAAAACG GAATTATCGAATGGAATCAAAGGAATCATCGAATGGA CC	7130
TEE-517	AGAATGGAAGGAATCGAAACGAAAGGAATGGAGACA GATGGAATGGAATG	7131
TEE-518	GAATCATCATAAAATGGAATCGAATGGAATCAACATCA AATGGAATCAAATGGTCTCGAATGGAATCATCTTCAAA TGGA ATGGAATGG	7132
TEE-519	AACAACAATGACAAACAAACAACGACAAAGACAT TTATTTGGTTCACAAATCTCCAGGGTGTACAAGAAGCA TGGTG CCAGCATCTGCTCAGCTTCTGATGAGGGCTCTGGAA GCTTTTACTC	7133
TEE-520	AACGGAATCGAACGGAATATAATGGAATGGAATGGATT CGAAAGGAATGGAATGGAATGCACAGGAAAAAATG AATG GGATTGGAATGGAATCG	7134
TEE-521	AACATCAAACGAAATCAAACGGAATTATCAAATTGAAT CGAAGAGAATCATCGAATTGCCACGAATGCAATCATCT AATG GTATGGAATGGAATAATCCATGGACCCAGATG	7135
TEE-522	AGAAATTAACGCAAAAGAAAGGATGCAGTGCAACTCA GGACAACACATACAATTCAAGCAACAAATGTATAGTGG CTGG GCACCAAGGATACAG	7136
TEE-523	GCAATAAAATCGACTCAGATAGAGAAGAATGCAATGGA	7137

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 3 8】

	ATGGAATGGAATGGAATGGAATGGGATGGAATGGTAT GGAA TGG	
TEE-524	AATGGACTCGAATGAAATCATCATCAAACGGAATCGAA TGGAATCATTGAATGGAAAGGATGGGATCATCATGGAA TGGAA AACGAATGGAATCACTG	7138
TEE-525	CCACATAAAACAAAACACAAGACAATGATAAAGTTCA CAACATTAACACAATCAGTAATGGAAAAGCCTAGTCAA TGGC AG	7139
TEE-526	TGGAATGGAATGGAATGGAATCAAATCGCATGCTAATG AATCAAATGGAATCAAATCGAATGGAAATAATGGAATC GAA GGGAAACGAATGGAATCGAATTGCACTGATTCTACTGA CTTCGAGGAAAATGAAATGAAATGCGGTGAAGTGGAA TGG	7140
TEE-527	GAATGTTATGAAATCAACTCGAACGGAATGCAATAGAA TGGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGG	7141
TEE-528	AATGGAATCATTGAATGGAATGGAATGGAATCATCAA GAAAGGAATCGAAGGGAATCATCGAATGGAATCAAAC GGAA TCATCGAATGGAATGGAATGGAATG	7142
TEE-529	GGAATCAACATCAAACGGAAAAAACGGAATTATCG AATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7143
TEE-530	GGAATAATCATCATCAAACGAAACCAAATGGAATCATT GAATGGAATCAAAGCAATCATGGTCAATG	7144
TEE-531	GCATAGAATCGAATGGAATTATCATTGAATGGAATCGA ATGGAATCAACATCAAACGGAAAAAACGGAATTATCG AATG GAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACCC	7145
TEE-532	AATGGAATCGAAGAGAATCATCGAACGGAATCGAATG GAATCATCTAATGGAATGGAATGGAATAATCCATGGAC CCGAA TG	7146
TEE-533	AAATGAATCGAATGGAATTGAATGGAATCAAATAGAAC AAATGGAATCGAAATGAATCAAATGGAATCGAATCGAA TGG AATTGAATGGCATGGAATTG	7147
TEE-534	AGTTAATCCGAATAGAATGGAATGGAATGCAATGGAAC GGAATGGAACGGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGG AATG	7148
TEE-535	ATCACAATCACACAACACATTGCACATGCATAACATGC ACTCACAATACACACAACACATACACAACACACATG	7149

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 3 9】

	CAAT ACAACACAAAACGCAACACAACATATACACAACACACA GCACACACATGCC	
TEE-536	AAAGACTTAAACGTTAGACCTAAAAACATAAAAAACCT AGAGGAAAAACCTAGGCATTACCATTGAGGACTTAGGC ATGGG CAAGGAC	7150
TEE-537	AAAGTCCAAAGATGAACAAAATATCCAGAAGGAAAAC AAATGCACTTGGGGAGTGGGAAAGAAAACCAAGACTG AGCAA TGCGTCAAGCTCAGACGTGCCTCACTACG	7151
TEE-538	AAACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAGTCGAAA AGAATCATCGAACGGAATCGAATGGAATCATCTAATGG AATG GAATGGAAGAATCCATGG	7152
TEE-539	AATTGATTGAAATTAATGGAATTGAATGGAATGCAAT CAAATGGAATGGAATGTAATGCAATGGAATGTAATAGA ATGG AAAGCAATGGAATG	7153
TEE-540	TACAGAACACATGACTCAACAACAGCAGAAAGCATATT CTTTCAAATGCACATGAAACATTATCATGATGGACCA AAT	7154
TEE-541	GGAACAAAATGAAATCGAACGCTAGGAATCATAACAGA ACAGAAAGAAATGGAACGGAATGGAATG	7155
TEE-542	AACGGAAGAAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAGAG AATCATCGAATGGAATCGAATGGAGTCATCG	7156
TEE-543	AATCGAACGGAATCAACATCAAACGGAAGAAAACGGA ATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7157
TEE-544	AGAATGGAATGCAATAGAATGGAATGCAATGGAATGG AGTCATCCGTAATGGAATGGAAGGAATGCAATGGAAT GGAA TGGAATGG	7158
TEE-545	ATGGAATCAACATCAAACGGAATCAAACGGAATTATCG AATGGAATCGAAGAGAATCATCGAACGGATTGGAATG GAATC ATCTAATGGAATGGAATGGAAGAATCCATGGACTCGAA TGCAATCATCAGCGAATGGAATCGAATGGAATCATCGA ATGG ACTCG	7159
TEE-546	GGAATAAAACGGACTCAATAGTAATGGATTGCAATGTA ATTGATTGATTTGGAATGGAATCGCATGGAATGTAAT GGAA TGGAATGGAATGGAAGGC	7160
TEE-547	AATGGAATCAACATCAAACGGAAGAAAACGGAATTATC	7161

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 4 0】

	GTATGGAATCGAAAAAATTTATCGAATGGACC	
TEE-548	TCAAACGGAACGGAATTTATCGAATGGAATCGA AGAGAATCATCGAATGGACC	7162
TEE-549	ACATCAAACGGAATCAAACGGAATTTATCGAATGGAATC GAAAAAATCATCGAACGGACTCGAATGGAATCATCTA ATGG AATGGAATGGAAGAATCCATGGACTCGAATG	7163
TEE-550	TGGAATCGAATGGAATCAACATCAAACGGAACGGAACG GGAATTTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGG ACC	7164
TEE-551	AATGGAATCGAATGGAATCATCGAACGGAATCGAATGG CATCACC GAATGGAATGGAATGGAATGGAATGGAATG G	7165
TEE-552	AGAATTGATTGAATCCAAGTGAATTTGAATGGAATGGA ATGGATTAGAAAGGAATGGAATGGATTGGAATGGATTG GAAT GGAAAGG	7166
TEE-553	AACTGCATCAACTAACAGGCAAAATAACCAGCTAATAT CATAATGACAGGATTAAATTCACAAATGACAATATTAAC CGT AAATGTAAATGGGCTA	7167
TEE-554	GTAAACAAACAATCAAGCAAGTAAGAACAGAAATAACA GCATTTGGCTTTTGAGTTAATGACAAGAACACTCGGCA TGGG AGCCTGGGTGAGCAAATCACAGATCTTC	7168
TEE-555	AAAGGAATGGACTGGAACAAAATGAAATCGAACGGTA GGAATCGTACAGAACGGACAGAAATGGAACGGCATGG AATGC ACTCG	7169
TEE-556	GAATCAACCCGAGCGGAAAGGAATGGAATGGAATGGA ATCAACACGAATGGAATGGAACGGAATGGAATGGGAT GGGAT GAAATGGAATGG	7170
TEE-557	AAGAAATGGAATCGAAGAGAATGGAACAAACGGAAT GGAATTTGAATGGAATGGAATTTGAATGGAATGGGA	7171
TEE-558	GACATGCAACACACACACAGCACACATGGAACATG CATCAGACATGCAACACACACACATACCACACATGG CATAT GCATCAGACGTGCCTCACTAC	7172
TEE-559	AAAGGAATGCACTCGAATGGAATGGACTTGAATGGAA TGTCTCCGAATGGAACGAGACTCGTATGAAATGGAATCG AATGG AATGGAATCAAATGGAATTTGATTTGAGTGAAATGGAAT CAAATGGAATGGCAACG	7173

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 4 1】

TEE-560	GGAACAAAATGAAATCGAACGGTAGGAATCGTACAGA ACGGAAAGAAATGGAACGGAATGGAATGCACTCGAAT GGAAA GGAGTCCAAT	7174
TEE-561	AAATTGATTGAAATCATCATAAAATGGAATCGAAGGGA ATCAACATCAAATGGAATCAAATGGAATCATTGAACGG AATT GAATGGAATCGTCAT	7175
TEE-562	AGAATGGAAGCAATAGAATGGAACGCACTGGATTG AGTGCAATGGAATCAATTGGAATGGAATCGAATGGAAT GGAT TGGCA	7176
TEE-563	AACACCAAACGGAAAAAACGGAATTATCGAATGGAA TCGAAGAGAATCTTCGAACGACCCGAATGGGATCAT CTAAT GGAATGGAATGGAATAATCCATGG	7177
TEE-564	AATGGAGACTAATGTAATAGAATCAAATGGAATGGCAT CGAATGGAATGGACTGGAATGGAATGTGCATGAATGG AATGG AATCGAATGGATTG	7178
TEE-565	AAATCGAATGGAACGCAATAGAATAGACTCGAATGTAA TGGATTGCTATGTAATTGATTGGAATGGAATGGAATCG ACTG GAATGCAATCCAATGGAATGGAATGCAATGCAATGGAA TGGAAATCGAACGGAATGCAGTGGAAAGGGAATGG	7179
TEE-566	AATCAACAAGGAACTGAAACAAGTAAACAAGAAAAACA AATAACACCATAAAACATGGGCAAAGGACATAAACAG CATT TTTCAAAAAAGACATACAAATGGCCGAG	7180
TEE-567	AATGGAATCAACATCAAACGGAAAAAACGGAATTATC GAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACCCAGGC TGGT CTTGAACTCC	7181
TEE-568	ATTGAATGGGCTAGAATGGAATCATCTTTGAACGGAAT CAAAGGGAATCATCATCGAATGGAATCGAATGGAATG TCAA CG	7182
TEE-569	AATGGACTCGAATGGAATCAACATCAAATGGAATCAAG CGGAATTATCGAATGAAATCGAAGAGAATCATCGAATG GACT CGAAAGGAATCATCTAATGGAATGGAATGGAATAATCC ATGGACTCGAATGCAATCATCATCG	7183
TEE-570	AAACGGAAAAAACGGAATTATTGAATGGAATCGAAG AGAATCTTCGAACGACCCGAATGGAATCATCTAATGG	7184

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 4 2】

	AATG GAATGGAATAATCCATGG	
TEE-571	ACTCGAGTGGAATTGACTGTAACAAAATGGAAAGTAA CGGATTGGAATCGAATGGAACGGAATGGAATGGAATG GACAT	7185
TEE-572	TACAAACTTTAAAAAATGATCAACAGATACACAGTTAG CAAGAAAGAAATTGAGGGCAAGAAATATGCCAGACAAA CTCA AGAGGAAGATGATGCTAGAGATAGGTCACATTGGAGT CTCA	7186
TEE-573	AAATCAACAACAAACGGAACAAAAAGGAATTATCGAAT GGAATCAAAGAGAATCATCGAATGGACC	7187
TEE-574	AACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAAA GAATCATCGAACGGAATCGAATGGAATCATCTAATGTA ATGGA ATGGAAGAATCCATGGACTCGAATG	7188
TEE-575	AACGGAACAAAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAGA GAATCATCGAATGGACCAGAATGGAATCATCTAATGGA ATGG AATGGAATAATCCATGGACTCGAATG	7189
TEE-576	CAACATCAAACGGAACAAAAACGGAATTATGGAATGGA ATCGAAGAGAATCATCGAATGGACCGAATGGAATCAT CTGA AATATAATAGACTCGAAAGGAATG	7190
TEE-577	ATGGAATCGAATGGAATGGACTGGAATGGAATGGATT CGAATGGAATCGAATGGAACAATATGGAATGTTACCAA ATG	7191
TEE-578	GAATGGAATCAACATCAAACGGAACAAAAACGGAATTAT CGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7192
TEE-579	AAATGGACTCGAATGGAATCATCATAGAATGGAATCGA ATGCAATGGAATGGAATCTTCGGAATGGAATGGAATG GAATGGAATGGAG	7193
TEE-580	GAATCATCATAAAATGGAATCGAATGGAATCAACATCA AATGGAATCAAATGGAATCATTGAACGGAATTGAATGG AATCGTCAT	7194
TEE-581	ATCGAATGGAATCAACATCAAACGGAACAAAAACGGA TTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7195
TEE-582	AGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAAATCAATGT ACAAAATCACAAAGCATTCTTATACACCAATAACAGAC AAACAGAGAGCCAAAA	7196
TEE-583	AGAAACAGAAAACAGTCAAACCAATGGGCAATCCATAT CAGATGCAGTATTATGAACAGAAAGTGTAAAGAATGCAC CAGGCACAATGGC	7197
TEE-584	GATTGGAACGAAATCGAATGGAACGGAATAGAATAGA	7198

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 4 3】

	CTCGAATGTAATGGATTGCTATGTAATTGATTCGAATG GAATGGAATCGAATGGAATGCAATCCAATGGAATGGA ATGCAATGCAATGGAATGG	
TEE-585	ATGGAATGGAATAATCAACGTACTCGAATGCAATCATC ATCGTATAGAATCGAATGGAATCATCGAATGGACTCGA ATGGAATAATCATTGAACGGAGTCGAATGGAATCATCA TCGGATGGAAAC	7199
TEE-586	AAAGAAATCGAATGGAATCAGTGTCGAATGGAATGGA ATGGAATCGAAGAATTGAATTGAGTAGAATCGAAGGG AATCATTGGATGGGCTCAAAT	7200
TEE-587	AGAAAAGATAACTCGATTAAACAAATGAACAAACACCTG AATACACAAGTCTCAAAAGAAGACATAAAATGGCCAA C	7201
TEE-588	ATGGAATCAACATCAAACGGAATCACACGGAATTATCG AATGGAATCGAAAAGAATCATCGAACGGACTCGAATG GAATCATCTAATGGAATGGAATGGAAG	7202
TEE-589	AATGGAATCAACATCAAACGGAATCAAGCGAAATTATC GAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACTCGAAT GGAATCATCTAATGGAATGGAATGGGAT	7203
TEE-590	AAACACAGTACAAATACTAATTCAAATCAAACCTTACTC AAAGTCATAATCAAACATGCCAGACGGGCTGAGGGGC AGCATTA	7204
TEE-591	GGAATCGAGTGGAATCATCGAAAGAAATCGAATGGAA TCATTGTCGAATGGAATGGAATGGAATCAAAGAATGGA ATCGAAGGGAATCATTGGATGGGCT	7205
TEE-592	AAAGAAAGACAGAGAACAAACGTAATTCAAGATGACT GTTTACATATCCAAGAACATTAGATGGTCAAAGACTTT AAGAAGGAATACATTCAAAGGCAAAAAGTCACTTACTG ATTTTGGTGGAGTTTGCCACATGGAC	7206
TEE-593	GAAAGGAATCATCATTGAATGCAATCACATGGAATCAT CACAGAATGGAATCGTACGGAATCATCATCGAATGGAA TTGAATGGAATCATCAATTGGACTCGAATGGAATCATC AAATGGAATCGATTGGAAGTGTCAAATGGACTCG	7207
TEE-594	CAATCAGAGCGGACACAAACAAATTGCATGGGAAGAA TCAATATCGTGAAAATGGCC	7208
TEE-595	CAGCGCACCACAGCACACACAGTATACACATGACCCA CAATACACACAACACACAACACATTACACACACCAC	7209
TEE-596	GCAAACAGAATTCAACACTACATTAGAACGATCATTCA TCACGACCTAGTAGGATGTTTTCTGGGATGCAAGGA TGGTTCAACAT	7210
TEE-597	CAATCAAAACAGCAATGAGATACCATTTTACACCAATC AAAATGGCTACTAAAAAGTCAAAAGCAAAATGCC	7211
TEE-598	TGGAATAGAATGGAATCAATGTTAAGTGAATCGAGTG GAATCATCGAAAGAAATCGAATGGAATCATGTGCGAAT	7212

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 4 4】

	GGTATGGAATGGAATCA	
TEE-599	AATGGAATGGAATCATCGCATAGAATGGAATGGAATTA TCATCGAATTGAATCGAATGGTATCAACATCAAACGGA AAAAACGGAAATATCGAATGGAATCGAAGAGAATCAT CGAACGGACC	7213
TEE-600	GAAAAACAAAACAAAACAAAACAAAACAAATCAAAA AAGTGGTAGCAGAAACCAGAAAGTCCATGTATATAGCT AATTGGCCTGGTTGT	7214
TEE-601	AGACCTTTCTCAGAAGACACACAAATTGCCAACAGGT ATATGAAAAAATGTTCAATATCACTAATCATCAGGGCG ATGCC	7215
TEE-602	CATGGAATCGAATGGAATTATCATCGAATGGAATCGAA TGGTACCAACACCAAACGAAAAAACGGAATTATCG AATGGAATCGAAGAGAATCTTCGAACGGACC	7216
TEE-603	AGAGCAGAAAACAAATGGAATTGAAATGAAGACAACAA TCAAAAGCATCAATGAAATGAAAAGTTGGGTTTGGAA GAGAGAAACAAT	7217
TEE-604	ACACAAACACACACACACACACACACACACACACACA CACACACACACACACACACACACACACACACATAC	7218
TEE-605	AACAAACAAATGAGATGATTTGAGATAGTGATAAACAC TATAACATAATTAATTCGTGCCAATCAGAGCATAACAGT GGTGTGGTGGCTGTGGAACAGATAGCAGAC	7219
TEE-606	AATGGAATCGAGTGAATGGAAGGCAATGGAATAGAA TGGAATGGAATCGAAAGGAACGGAATGGAATGGAATG GAATG	7220
TEE-607	AGAAATGGAATCGGAGAGAATGGAACAAATGGAATG GAATTGAATGGAATGGAATTGAATGGAATGGGAACG	7221
TEE-608	AAGAGAACTGCAAAACACTGCTCAAAAGAAATCAGAGA TGACAAAAACACATGGAAAAACGTTTCATGCTCATGGA TTGGAAGACTTA	7222
TEE-609	AATCAACACGAATAGAATGGAACGGAATGGAATGGAA TGGAATGGAATGGAATGGAGTGAATGGAACAGAATG GAGTGAAT	7223
TEE-610	AACATCAAACGAAATCAAACGGAATTATCAAATTGAAT CGAAGAGAATCATCGAATTGCCACGAATGCAACCATCT AATGGTATGGAATGGAATAATCCATGGACCCAGATG	7224
TEE-611	CGGAATTATCATCGAATCTAATCGAATGGAATCAACAT CAAACGAAAAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAA GAGAATCATCGAATGGACC	7225
TEE-612	TGGACACACACGAACACACACCTACACACACGTGGAC ACACACGGACACATGGACACACACGAACACATGGACA CACACACGGGGACACACACAGACACACACAGAGACAC ACACGGACACATGG	7226

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 4 5】

TEE-613	ATCAAACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATCGA AGAGAATCATCGAATGGACTCGAATGGAATCATCTAAT GGAATGGAATGGAAGAATCCATGG	7227
TEE-614	AAATGGAATGGAATGCACTTGAAAGGAATAGACTGGA CAAAAATGAAATCGAACGGTAGGAATCATACAGAACA GAAAGAAATGGAACGGAATGGAATG	7228
TEE-615	ACCACACACAAAATACACCACACACCACACACACACC ACACACTATACACACACCACACACCACACAC	7229
TEE-616	AAAGAAATAGAAGGAGTTGAACAGAATCGAATGGAA TCGAATCAAATGGAATCGAATGGCATCAAATGGAATCG AATGGAATGTGGTGAAGTGGATTGG	7230
TEE-617	GGAATCATCATAAAATGGAATCGAATGGAATCATCATC AAATGGAATCAAATGGAATCATTGAACGGAATTGAATG GAATCGTCAT	7231
TEE-618	AAAGATCAATGTACAAAAATCAGCAGCATTTCTATAAA CCAACAATGTCCAGGCTGAGAGAGAAATCAAGAAAAC AATTC	7232
TEE-619	TGGAATGGAATGGAATGAAATAAACCGAATAGAATGG AACGGAATGGAACGGAATGGAATGGAATGGAATGGAA AG	7233
TEE-620	TAATCAGCACAATCAACTGTAGTCACAAAACAAATAGT AACGCAATGATAAAGAAACAGAGAACTAGTTCAAATAA ACATGATAAGATGGGG	7234
TEE-621	AAGCGGAATTATCAAATGGAATCGAAGAGAATGGAAA CAAATGGAATGGAATTGAATGGAATGGAATGGAATGGA ATG	7235
TEE-622	AATGGAATCAACATCAAACGGAACGGAATTATC GAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7236
TEE-623	ACTTGAATCGAATGGAAAGGAATTTAATGAACTTAAAT CGAATGGAATATAATGGTATGGAATGGACTCATGGAAT GGAATGGAAAGGAATC	7237
TEE-624	TGGAATCATCATCGAAAGCAAGCGAATGGAATCATCAA ATGGAAACGAATGGAATCATCGAATGGACTCGGATGG AATTGTTGAATGGACT	7238
TEE-625	TGGAATCAACATCAAACGGAACGGAATTATCGA ATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7239
TEE-626	TAAGTGAATTGAATAGAATCAATCTGAATGTAATGAAA TGGAATGGAACGGAATGGAATGGAATGGAATGGAATG GAATGGAATGG	7240
TEE-627	AGGAAAATTTAATCAGCAGGAATAGAAACACACTTGAG AAATCCATGTGGAATGAAAAGAGAATGGCTGAGCAGC AACAGATTGTCAAAAAGGAAATC	7241
TEE-628	AACATCAAACGGAACGGAATTATCGAATGGA ATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7242

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 4 6】

TEE-629	TAATTGAGAATAAGCATTCCAGTGGAACAAAACTAAACAAATTTGTTGTAACATCCTTAAAGCATCAGAAAGT TAATACAGCAATGAAGAATTACAGGACCAATTAAGAA TGGTATGGAAGCCTGTTA	7243
TEE-630	TATCATCGAATGGAATCGAATGGAATCAACATCAAACG GAAAAAACGGAATTATCGAATTGAATCGAAGAGAATC ATCGAATGGACC	7244
TEE-631	AGCAAAACAAACACAATCTGTCGTTTCATGGTACTACGA CATACTGGGAGAGATATTCAAATGATCACACAAAACAA CATG	7245
TEE-632	AAGGATTCGAATGGAATGAAAAAGAATTGAATGGAATA GAACAGAATGGAATCAAATCGAATGAAATGGACTGGA ATAGAAAGGAATGGAATG	7246
TEE-633	AACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAGA GAATCATCGAACGGAATCGAATGGAATCATCTAATGGA ATGGAATGGAAGAATCCATGGAATCGAATGCAATCATC ATCGAATGGAATCGAACGGAATCATCGAATGGCC	7247
TEE-634	AATCAACTAGATGTCAATGGAATGCAATGGAATAGAAT GGAATGGAATTAACACGAATAGAATGGAATGGAATGG AATGGAATGG	7248
TEE-635	AATGGACTCGAATGGAATAATCATTGAACGGAATCGAA TGGAATCATCATCGGATGGAATGAATGGAATCATCAT CGCATGGAATCG	7249
TEE-636	GAATGGAATGATACGGAATAGAATGGAATGGAACGAA ATGGAATTGAAAGGAAAGGAATGGAATGGAATGGAAT GG	7250
TEE-637	AATCATCATCGAATGGAATCGAATGGTATCATTGAGTG GAATCGAATGGAATCATCATCAGATGGAATGAATGGA ATCGTCAT	7251
TEE-638	GAATCAAATCAATGGAATCAAATCAAATGGAATGGAAT GGAATTGTATGGAATGGAATGGCATGG	7252
TEE-639	TAATGCAGTCCAATAGAATGGAATCGAATGGCATGGAA TATAAAGAAATGGAATCGAAGAGAATGGGAACAAATG GAATGGAATTGAGTGAATGGAATTGAATGGAATGGG AACGAATGGAGTG	7253
TEE-640	AACATCAAACGGAACAAAAACGGAATTATCGAATGGAAT CGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7254
TEE-641	ATCAAAAGGAACGGAATGGAATGGAATGGAATGGAAT GGAATGGAATGGAATGGAATGGAATCAACCCGAATGG AATGGATTGGCATAGAGTGAATGG	7255
TEE-642	GCCAACAATCATATGAGAAAAAGCTCAACATCACTGAT CATTTTCAGGAATGCAAAATCAAAACCACAATGAGATACT ATCA	7256
TEE-643	AATCAAATGGAATGAAATCGAATGGAATTGAATCGAAT	7257

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 4 7】

	GGAATGCAATAGAATGTCTTCAAATGGAATCGAATGGA AATTGGTGAAGTGGACGGGAGTG	
TEE-644	TAATGGAATCAACATCAAACGGAAAAAACGGAATTAT CGAATGCAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7258
TEE-645	AGCAACTTCAGCAAAGTCTCAGCATACAAAATCAATGT GCAAAAATCACACGCATTCTATACACCAATAACAGAC AAACAGAGAGCC	7259
TEE-646	GAATCAAATGGAATGGACTGTAATGGAATGGATTCGAA TGGAATCGAATGGACTGGACTCAAATGGAATG	7260
TEE-647	AACAAGTGGACGAAGGATATGAACAGACACTTCTCAA GACATTATGCAGCCAACAGACACGAAAAAATGCTC ATCATCACTGGCCATCAG	7261
TEE-648	AAACGGAAAAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAATA GAATCATCGAATGGACC	7262
TEE-649	TGGAACCGAACAACTCATCACCGAATGGAATTGAAA TGAATCATAATCGAATGGAATCAAATGGCATCTTCGAA TTGACTCGAATGCAATCATCCACTGGGCTT	7263
TEE-650	AACGGAATCACGCGGAATTATCGAATGGAATCGAAGA GAATCATCGAATGGACTCGAATGGAATCATCTAATGGA ATGGAATGG	7264
TEE-651	GGAATCAACTCGATTGCAATGGAATGCAATGGAAAGG AATGGAATGCAATTAAAGCGAATAGAATGGAATGGAAT GGAATGGAACGGAATGGAATG	7265
TEE-652	AAAACAAACAACAACGACAAATCATGAGACCAGAGTT AAGAAACAATGAGACCAGGCTGGGTGTGGTG	7266
TEE-653	AATCGAAAAGGAATGCAATATTATTGAACAGAATCGAAA AGAATGGAATCAAATGGAATGGAACAGAGTGAATGG ACTGC	7267
TEE-654	AAGGAATCGAATGGAAGTGAATGAAATTGAATCAACA GGAATGGAAGGGAATAGAATAGACTGTAATGGAATGG ACTCG	7268
TEE-655	AACCCGAGTGCAATAGAATGGAATCGAATGGAATGGA ATGGAATGGAATGGAATGGAATGGAGTC	7269
TEE-656	GAATGGAATTGAAAGGAATGGAATGCAATGGAATGGA ATGGGATGGAATGGAATGCAATGGAATCAACTCGATTG CAATG	7270
TEE-657	GAAAAAACGGAATTATCGAATTGAATCAAATAGAATC ATCGAACGGACCAAAATGGAATCATCTAATGGAATGGA ATGGAATAATCCATGGACTCTAATG	7271
TEE-658	TGGAATCATCTAATGGAATGGAATGGAATAATCCATGG ACTCGAATGCAATCATCATAAAATGGAATCGAATGGAA TCAACATCAAATGGAATCAAATGGGATCATTGAACGGA ATTGAATGGAATCGTCAT	7272

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 4 8】

TEE-659	GAAAAAACGGAATTATCGAATTGAATCGAATAGAATC ATCGAACGGACCAGAATGGAATCATCTAATGGAATGGA ATGGAATAATCCATGGACTCGAATG	7273
TEE-660	AACCACTGCTTAAAGGAAATAAGAGAGAACACAAACAA ATGGAAAAACGTTCCATGCTCATGGATAGGAGAATCAA TATCGTGAAAAATGGCC	7274
TEE-661	TATCGAATGGAATGGAAAGGAGTGGAGTAGACTCGAA TAGAATGGACTGGAATGAAATAGATTCTGAATGGAATGG AATGGAATGAAGTGGACTCG	7275
TEE-662	GTATCAACATCAAAACGGAAAAAACGGAATTATCGAAT GGAATCATCTAATGGAATGGAATGGAATAATCCATGGA CTCGAATG	7276
TEE-663	TAAATGGAGACATCATTGAATACAATTGAATGGAATCA TCACATGGAATCGAATGGAATCATCGTAAATGCAATCA AGTGAATCAT	7277
TEE-664	GAATGGAATTGAAAGGTATCAACACCAAACGGAAAAA AAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCG AACGGACC	7278
TEE-665	AGCAATTTTCAGCAAAGTCTCAGGATACAAATCAATGT ACAAATTCACAAGCATCTTATGGACCAACAAACAG	7279
TEE-666	GGAATCGAATGGCATCAACATCAAACGGAAAAAACG GAATTATCGAATGGAATCGAATGGAATCATC	7280
TEE-667	AAACAAAAACACAGAAATGCAAAGACAAACATAAAAC GCAGCCATAAAGACATATTTTAGATAACTGGGGAAAT TTGTATGGGCTGTGT	7281
TEE-668	AATGGAATCAACATCAAACGGAATCAAACGGAATTATC GAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAACGGACTCGAAT GGAATCATCTAATGGAATGGAATGGAAG	7282
TEE-669	AATCGAATGGAATCAGCATCAAACGGAAAAAACGGA ATTATCGAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7283
TEE-670	AAACGGAATTATAGAATGGACTGGAAGAGAATCATCGA ACGGACTAGAATGGAATCATCTAATCGAATGGAATGGA ACAATCCATGGTCTAGCA	7284
TEE-671	TGAACAGAGAATTGGACAAAAACGCACAAAGTAAAGAA AAAGAATGAAGCAACAAAAGCAGAGATTTATTGAAAA CAAAAGTACACACCACACAGGTTGGAGTGG	7285
TEE-672	ATCATAACGACAAGAACAATTCACACACAACAATATT AACTTCAAATCCAAATGGGTAAATGCTCCAATTAAAG GATGCAGACGGGCAAATTGGATA	7286
TEE-673	ATCATAACGACAAGAACAATTCACACACAACAATATT CACTTCAAATCCAAATGGGTAAATGCTCCAATTAAAG GATGCAGACGGGCAAATTGGATA	7287
TEE-674	GAATGGAATCGAATGGATTGATATCAACTGGAATGGAA TGGAAGGGAATGGAATGGAATGGAATTGAACCAAATG	7288

10

20

30

【表 0 0 3 5 - 4 9】

	TAATGACTTGAATGGAATG	
TEE-675	GAATCAACATCAAACGGAAAAAACCGAATTATCGAAT GGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7289
TEE-676	GGAATCAACATCAAACGGAAAAAACCGAATTATCGA ATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7290
TEE-677	ATGGAATCAACATCAAACGGGAATCAAACGGGAATTATCG AATGGAATCAAAGAGAATCATCGAACGGAATCGAATG GAATCATCTAATGGAATGGAATGGAAGAATCCATGGAC TCGAATGCAATCATCATCGAAT	7291
TEE-678	GGAATGGAATGGAATGGAGCCGAATGGAATGGAATGT ACTCAAATGGAATGC	7292
TEE-679	AAAACACCTAGGAATACAGATAACAAGGGACATTAAC ACCTCTTAAAGAGAACTACAAACCACTGCTCAAGGAA ATGAGAGAGGACACAAACACATGGAATAACATTCAT CCTCATGGATAGGAAGAATCAATATTGTGAAAATGGCC	7293
TEE-680	AACACGACTTTGAGAAGAGTAAGTGATTGTAAATTTAA GCAAGAGAATTATTGATGTATCACAGTCATGAGAAATA TTGGAAGGAATATGGTCCATAC	7294
TEE-681	ACACATATCAAACAAAACAAAGCAATTGACTATCTAGA AATGTCTGGGAAATGGCAAGATATTACA	7295
TEE-682	GGAATCATCATATAATGGAATCGAATGGAATCAACATC AAATGGAATCAAATGGAATCATTGAACGGAATTGAATG GAATCGTCAT	7296
TEE-683	AATGGAATCAACATCAAACGGGAATCAAATGGAATTATC GAATGGAATCGAAGAGAATCATCGAATTGTACGAATG GAATCATCTAATGGAATGGAATGGAATAATCCATGGCC CCTATGCAATGGACTCGAATGAAATCATCATCAAACAG AATCGAATGGAATCATCTAATGGAATGGAATGGCATAA TCCATGGACTCGAATG	7297
TEE-684	TAAAATGAAACAAATATACAACACGAAGGTATCACCA GAAATATGCCAAAACTTAAATATGAGAATAAGACAGTC TCAGGGGCCACAGAG	7298
TEE-685	AAAATACAGCGTTATGAAAAGAATGAACACACACACAC ACACACACACACAGAAATGT	7299
TEE-686	CAAACAAATAGGTACCAAACAAATAACAACATAAACCT GACAACACACTTATTTACAAGAGACATCCCTTATATGA AAGGGTACAGAAAAGTCGATGCTAAGATGATGGGAA AGGTATACCAACCACTAGCAGAAGG	7300
TEE-687	TGGAATCGAATGGAATCAATATCAAACGGAAAAAACG GAATTATCGAATGGAATCGAAAAGAATCATCGAATGGG CCCGAATGGAATCATCT	7301
TEE-688	ACAAATGGAATCAACAACGAATGGAATCGAATGGA CGCCATCGAAAGGAAACGAATGGAATTATCATGAAATT GAAATGGATG	7302

10

20

30

【表 0035-50】

TEE-689	AATCAATAAATGTAAACCAGCATATAAACAGAACCAAC GACAAAAACCACATGATTATCTCAATAGATGCAGAAAA GGCC	7303
TEE-690	AAAATAAACGCAAATTTAAATCACAAGATACCAACACA TTCCCACGGCTAAGTACGAAGAACAAGGCGAATGGT CAGAATTAAGCTCAAACCT	7304
TEE-691	CAACATCAAACGGAATCAAACGGAATTATCGAATGGAA TCGAAGAGAATCATCGAATGGACTCGAATGGAATCATC TAATGGAATGGAATGGAAG	7305
TEE-692	ACATCAAACGGAAAAAACGGAATTATCGAATGGAATC GAAGAGAATCATCGAATGGACC	7306
TEE-693	AATGGACTCGAATAGAATTGACTGGAATGGAATGGACT CGAATGGAATGGAATGGAATGGAAGGGACTCG	7307
TEE-694	AAGAAAGACAGAGAACAACGTAATTCAAGATGACTG ATTACATATCCAAGAACATTAGATGGTCAAAGACTTTA AGAAGGAATACATTCAAAGGCAAAACGTCACCTACTGA TTTTGGTGGAGTTTGCCACATGGAC	7308
TEE-695	GAATGGAATCGAATGGAATGAACATCAAACGGAAAAA AACGGAATTATCGAATGGAATCAAAGAGAATCATCGAA TGGACCCG	7309
TEE-696	ATGGACTCGAATGTAATAATCATTGAACGGAATCGAAT GGAATCATCATCGGATGGAACGAATGGAATCATCATC GAATGGAATCGAATGGGATC	7310
TEE-697	GAAATGGAATGGAAAGGAATAAAATCAAGTGAATTG GATGGAATGGATTGGAATGGATTGGAATG	7311
TEE-698	AAACGGAAAAAACGGAATTATCGAATGGAATCGAA GAGAATCATCGAACGAACCAGAATGGAATCATCTAATG GAATGGAATGGAATAATCCATGG	7312
TEE-699	ATTAACCCGAATAGAATGGAATGGAATGGAATGGAACG GAACGGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGGAATGGA TCG	7313
TEE-700	AACATCAAACGGAAAAAACGGAATTATCGTATGGAAT CGAAGAGAATCATCGAATGGACC	7314
TEE-701	GAATAGAATTGAATCATCATTGAATGGAATCGAGTAGA ATCATTGAAATCGAATGGAATCATCATCGAATGGAATT GGGTGGAATC	7315
TEE-702	CACCGAATAGAATCGAATGGAACAATCATCGAATGGAC TCAAATGGAATTATCCTCAAATGGAATCGAATGGAATT ATCG	7316
TEE-703	AATGCAATCGAATAGAATCATCGAATAGACTCGAATGG AATCATCGAATGGAATGGAATGGAACAGTC	7317
TEE-704	AAATCATCATCGAATGGAATCGAATGGTATCATTGAAT GGAATCGAATGGAATCATCATCAGATGGAAATGAATGG AATCGTCAT	7318

10

20

30

【表 0035-51】

TEE-705	GAATGGAATCGAAAGGAATAGAATGGAATGGATCGTTA TGAAAAGACATCGAATGGAATGGAATTGACTCGAATG GAATGGACTGGAATGGAACG	7319
---------	---	------

40

【1091】

実施例 46. miR-122 で修飾された核酸の in vitro 発現

翻訳抑制および／または標的メッセンジャー RNA の分解によるマイクロ RNA 遺伝子発現。ヒトまたはマウスの α-グロビン 3' 翻訳不可能領域 (UTR) での G-C S F

50

mRNAおよび第IX因子mRNAの発現を、3'UTRのmiR-122配列を使用してヒト初代肝細胞において下方制御した。

【1092】

初代ヒト肝細胞を、500μlの細胞培養培地(CellsisのInVitro GRO培地、シカゴ、イリノイ州)に、ウェル当り350000の密度で播種した。

【1093】

ヒトα-グロビン3'UTR(G-CSF Hs 3'UTR、配列番号7320に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)またはマウスα-グロビン3'UTR(G-CSF Mm 3'UTR、配列番号7321に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)は、5-メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された。3'UTRにmiR-122配列を有するヒト3'UTRを含むG-CSF mRNA(G-CSF Hs 3'UTR miR-122、配列番号7322に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)、または3'UTR中のmiR-122種配列(G-CSF Hs 3'UTR miR-122種、配列番号7323に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)または3'UTRに種配列のないmiR-122配列(G-CSF Hs 3'UTR miR-122種なし、配列番号7324に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)は、5-メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された。3'UTRにmiR-122配列を有するマウス3'UTRを含むG-CSF mRNA(G-CSF Mm 3'UTR miR-122、配列番号7325に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)、または3'UTR中のmiR-122種配列(G-CSF Mm 3'UTR miR-122種、配列番号7326に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)または3'UTRに種配列がないmiR-122配列(G-CSF Mm 3'UTR miR-122種なし、配列番号7327に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)は5-メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された。

【1094】

ヒトα-グロビン3'UTRを有する第IX因子mRNA(Factor IX Hs 3'UTR、配列番号7328に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)またはマウスα-グロビン3'UTR(Factor IX Mm 3'UTR、配列番号7329に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)は、5-メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された。3'UTRにmiR-122配列を有するヒト3'UTRを含む第IX因子mRNA(Factor IX Hs 3'UTR miR-122、配列番号7330に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)、または3'UTR中のmiR-122種配列(Factor IX Hs 3'UTR miR-122種、配列番号7331に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)または3'UTRに種配列がないmiR-122配列(Factor IX Hs 3'UTR miR-122種なし、配列番号7332に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)は、5-メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された。3'UTRにmiR-122配列を有するマウス3'UTRを含む第IX因子mRNA(Factor IX Mm 3'UTR miR-122、配列番号7333に示されるmRNA配列、配列には示され

ていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)、または3' UTR中のmiR-122種配列(Factor IX Mm3'UTR miR-122種、配列番号7334に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)または3'UTRに種配列がないmiR-122配列(Factor IX Mm3'UTR miR-122種なし、配列番号7335に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1)は5-メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された。

【1095】

G-CSFまたは第IX因子mRNA配列を、24ウェルプレートにウェルあたり500 ngの濃度で試験した。形質移入から24、48および72時間後に、タンパク質の発現をELISAで測定した。G-CSFのタンパク質レベルを表36に示し、第IX因子のタンパク質レベルを表37に示す。

表36. G-CSFタンパク質発現

【表 0 0 3 6】

説明	タンパク質発現 (ng/ml)		
	24時間	48時間	72時間
G-CSF Hs3'UTR	43.9	18.8	5.7
G-CSF Hs3'UTR miR-122	6.9	0.7	0.12
G-CSF Hs3'UTR miR-122種	48.5	25.6	8.2
G-CSF Hs3'UTR miR-122種なし	31.7	11.7	3.4
G-CSF Mm3'UTR	84.9	100.4	21.3
G-CSF Mm3'UTR miR-122	24.0	3.03	0.8
G-CSF Mm3'UTR miR-122種	115.8	96.4	19.2
G-CSF Mm3'UTR miR-122種なし	113.1	92.9	18.9

10

20

30

表 3 7 . 第 I X 因子タンパク質発現

【表 0037】

説明	タンパク質発現 (ng/ml)		
	24時間	48時間	72時間
G-CSF Hs3'UTR	43.9	18.8	5.7
G-CSF Hs3'UTR miR-122	6.9	0.7	0.12
G-CSF Hs3'UTR miR-122種	48.5	25.6	8.2
G-CSF Hs3'UTR miR-122種なし	31.7	11.7	3.4
G-CSF Mm3'UTR	84.9	100.4	21.3
G-CSF Mm3'UTR miR-122	24.0	3.03	0.8
G-CSF Mm3'UTR miR-122種	115.8	96.4	19.2
G-CSF Mm3'UTR miR-122種なし	113.1	92.9	18.9

10

【1096】

実施例 47. miR-142 または miR-146 結合部位で修飾された核酸の in vitro 発現

HeLa および RAW264 細胞をそれぞれ、100 μ l の細胞培養培地 (DMEM + 10% FBS) ウェル当り 17000 および 80000 の密度で播種した。

【1097】

G-CSF mRNA (G-CSF、配列番号 6595 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) は 5-メチルシチジンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された。

20

【1098】

3' UTR に miR-142-3p 配列を有する G-CSF mRNA (G-CSF miR-142-3p、配列番号 6634 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、または 3' UTR 中の miR-142-3p 種配列 (G-CSF miR-142-3p 種、配列番号 6636 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) または 3' UTR に種配列がない miR-142-3p 配列 (G-CSF miR-142-3p 種なし、配列番号 6638 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) は 5-メチルシチジンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された。

30

【1099】

3' UTR に miR-142-5p 配列を有する G-CSF mRNA (G-CSF miR-142-5p、配列番号 6628 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、または 3' UTR 中の miR-142-5p 種配列 (G-CSF miR-142-5p 種、配列番号 6630 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) または 3' UTR に種配列がない miR-142-5p 配列 (G-CSF miR-142-5p 種なし、配列番号 6632 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) は 5-メチルシチジンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された。

40

【1100】

3' UTR に miR-146a 配列を有する G-CSF mRNA (G-CSF miR-146a、配列番号 6640 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、または 3' UTR 中の miR-146a 種配列 (G-CSF miR-146a 種、配列番号 6642 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) もしくは 3' UTR に種配列がない miR-146a 配列 (G-CSF miR-146a 種なし、配列番号 6644 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) は 5-メチル

50

シチジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された。

【1101】

G-CSF mRNA配列のそれぞれを、各細胞型について24ウェルプレートにウェルあたり500 ngの濃度で試験した。形質移入から24時間後、タンパク質の発現をELISAで測定し、タンパク質レベルを表38に示す。3' UTRのmiR-142-3p配列とのG-CSF配列は、RAW264のG-CSF発現を下方制御したが、3' UTRのmiR-142-5pまたはmiR-146a配列とのG-CSF配列はG-CSF発現を下方制御しなかった。

表38. G-CSF発現

【表0038】

記述	HeLa細胞	RAW264細胞
	タンパク質発現(ng/ml)	タンパク質発現(ng/ml)
G-CSF	243.5	173.7
G-CSF miR-142-3p	309.1	67.6
G-CSF miR-142-3p種	259.8	178.1
G-CSF miR-142-3p種なし	321.7	220.2
G-CSF miR-142-5p	291.8	223.3
G-CSF miR-142-5p種	261.3	233.1
G-CSF miR-142-5p種なし	330.2	255.1
G-CSF miR-146a	272.6	125.2
G-CSF miR-146a種	219.4	138.3
G-CSF miR-146a種なし	217.7	132.8

【1102】

実施例48. 修正された核酸の発現へのコザック配列の影響

HeLa細胞を100 μlの細胞培養培地(DMEM+10% FBS)にウェルあたり17000の密度で播種した。IRES配列およびコザック配列を有するG-CSF mRNA (G-CSF IRES Kozak、配列番号7336に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5' キャップ、キャップ1)、IRES配列を有するがコザック配列を有さないG-CSF mRNA (G-CSF IRES、配列番号7337に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5' キャップ、キャップ1)、IRESもコザック配列も有さないG-CSF mRNA (G-CSF no Kozak、配列番号7338に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5' キャップ、キャップ1)、またはコザック配列を有するG-CSF配列 (G-CSF Kozak、配列番号7339に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5' キャップ、キャップ1)は5-メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され、24ウェルプレートにウェルあたり75 ngの濃度で試験を行った。形質移入から24時間後に、G-CSFの発現をELISAで測定し、結果を表39に示す。

表39. G-CSF発現

【表0039】

記述	タンパク質発現(ng/ml)
G-CSF IRES Kozak	2.01
G-CSF IRES	1.64
G-CSF Kozak無し	795.53
G-CSF Kozak	606.28

10

20

30

40

50

【 1 1 0 3 】

実施例 49. MALAT1 構築物

ヒトまたはマウスMALAT1配列で、G-C-S-FまたはmCherryをコードしている修飾mRNAおよび対応するcDNA配列を以下の表40に示す。表40では、各配列の開始コドンに下線を引き、MALAT1配列を太字にしている。

表 40. MALAT1 構築物

【表 0 0 4 0 - 1】

	記述	配列番号
マウス MALAT1 配列を有 するG- CSF	T7ポリメラーゼ部位，コザック配列を含む最適化されたG-CSF cDNA配列，およびマウスMALAT1配列(太字): TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAAGAGTAAGAAGAAATATAAG AGCCACC ATGGCCGGTCCCGCGACCCAAAGCCCATGAACTTATGG CCCTGCAGTTGCTGCTTTGGCACTCGGCCCTCTGGACAGT CCAAGAAGCGACTCCTCTCGGACCTGCCTCATCGTTGCCG CAGTCATTCCCTTTGAAGTGCTGGAGCAGGTGCGAAAAG TTCAGGGCGATGGAGCCGCACTCCAAGAGAAGCTCTGCGC GACATACAACTTTGCCATCCCGAGGAGCTCGTACTGCTCG GGCACAGCTTGGGGATTCCCTGGGCTCCTCTCTCGTCTCTG TCCGTGCGCAGGCTTTGCAGTTGGCAGGGTGCCTTTCCAG CTCCACTCCGGTTTGTCTTGTATCAGGGACTGCTGCAAGC CCTTGAGGGAATCTCGCCAGAATTGGGCCCGACGCTGGAC ACGTTGCAGCTCGACGTGGCGGATTTGCAACAACCATCT GGCAGCAGATGGAGGAACTGGGGATGGCACCCCGCGCTGC AGCCACGCGAGGGGCAATGCCGGCCTTTGCGTCCGCGTT TCAGCGCAGGGCGGGTGGAGTCCTCGTAGCGAGCCACCTT CAATCATTTTTGGAAGTCTCGTACCGGGTGTCTGAGACATCT TGCGCAGCCG TGATAATAG GATTCTGTCAGTAGGGTTGTAAAGGTTTTCTTTTCTGAGA AAACAACCTTTTGTCTTCAGGTTTGTCTTTTGGCCTTT CCCTAGCTTTAAAAAAGCAAAAGTGGTCTTTGAAT AAAGTCTGAGTGGGCGGCTCTAGA	7340
	mRNA配列 (転写された): GGGAAUAAGAGAGAAAAAGAGUAAGAAGAAUAUAA GAGCCACC AUGGCCGGUCCCGCGACCCAAAGCCCAUGAAACUUUUG GCCUGCAGUUUGCUGUUUGGCACUUGGCCCUUGGAC AGUCCAAGAAAGCGACUCCUUCGGACCUCCUCAUCGU UGCCGCAGUCAUUCUUUUUGAAGUGUCUGGAGCAGGUG CGAAAGAUAUCAGGCGAUGGAGCCGCACUCCAAGAGAAG CUCUGCGGACAUACAAACUUUGCCAUCCCGAGGAGCUC GUACUGCUGGGCACAGCUUUGGGAUUCUUGGGCUCC UCUCUGUCCUGUCCGUCGAGGCUUUGCAGUUGGCAG GGUGCCUUUCCAGCUCCACUCCGGUUUGUUCUUGUAU CAGGGACUGCUGCAAGCCCUUGAGGGAAUCUGCCAGAA UUGGGCCCGACGCGUGGACACGUUGCAGCUCGACGUGGC GGAUUUCGCAACAACCAUCUGGCAGCAGAUUGAGGAAC UGGGGAUGGCACCCGCGCUGCAGCCACGCAGGGGCAA	7341

10

20

30

40

【表 0040-2】

	UGCCGGCCUUUGCGUCCGCGUUUCAGCGCAGGGCGGGU GGAGUCCUCGUAGCGAGCCACCUUCAUUAUUUUUGGA AGUCUCGUACCGGGUGCUGAGACAUCUUGCGCAGCCG UGAUAAUAG GAUUCGUCAGUAGGGUUGUAAAGGUUUUUUCUUUUCCU GAGAAAACAACCUUUUGUUUUUCUCAGGUUUUGCUUUU UGGCCUUUCCCUAGCUUUAAAAAAAAAAAAAGCAAAAGUG GUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC	
マウス MALAT1 配列を有 する mCherry	T7ポリメラーゼ部位, コザック配列を含む最適化された mCherry cDNA配列, およびマウスMALAT1配列(太字): TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAG AGCCACC ATGGTATCCAAGGGGGAGGAGGACAACATGGCGATCATCA AGGAGTTCATGCGATTCAAGGTGCACATGGAAGGTTCCGGT CAACGGACACGAATTTGAAATCGAAGGAGAGGTTGAAGGA AGGCCCTATGAAGGGACACAGACCGCGAAACTCAAGGTCA CGAAAGGGGGACCACTTCCTTTTCGCTGGGACATTCTTTC GCCCCAGTTTATGTACGGGTCCAAAGCATATGTGAAGCATC CCGCCGATATTCTGACTATCTGAAACTCAGCTTTCCCGAG GGATTCAGTGGGAGCGGGTCATGAACTTTGAGGACGGGG GTGTAGTCACCGTAACCCAAGACTCAAGCCTCCAAGACGG CGAGTTTCATCTACAAGGTCAAACCTGCGGGGGACTAACTTT CCGTCCGATGGGCCGGTGATGCAGAAGAAAACGATGGGAT GGGAAAGCGTCATCGGAGAGGATGTACCCAGAGATGGTGC ATTGAAGGGGGAGATCAAGCAGAGACTGAAGTTGAAAGAT GGGGGACATTATGATGCCGAGGTGAAAACGACATACAAAG CGAAAAAGCCCGTGCAGCTTCCCGGAGCGTATAATGTGAA TATCAAGTTGGATATTACTTCACACAATGAGGACTACACAA TTGTCTGAACAGTACGAACGCGCTGAGGGTAGACACTCGAC GGGAGGCATGGACGAGTTGTACAAA TGATAATAG GATTCTGTCAGTAGGGTTGTAAAGGTTTTCTTTTCCTGAGA AAACAACCTTTTGTCTCAGGTTTTGCTTTTGGCCTTT CCTAGCTTTAAAAAAAAAAAAAGCAAAAGTGGTCTTTGAAT AAAGTCTGAGTGGGCGGCTCTAGA	7342
	mRNA配列(転写された): GGGAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAGAAAUUAA GAGCCACC AUGGUAUCCAAGGGGGAGGAGGACAACAUGGCGAUCAU CAAGGAGUUCUUGCGAUUCAAGGUGCACAUGGAAGGUU CGGUCAACGGACACGAAUUUGAAAUCGAAGGAGAGGGU GAAAGGAAGGCCCUAUGAAGGGACACAGACCGCGAAACUC AAGGUCACGAAAGGGGGACCACUUCUUUCGCCUGGGA	7343

10

20

30

【表 0040-3】

	CAUUCUUUCGCCCCAGUUUAUGUACGGGUCCAAAGCAU AUGUGAAGCAUCCCGCCGAUUAUCCUGACUAUCUGAAA CUCAGCUUUCCCCGAGGGAUUCAGUGGGAGCGGGUCAU GAACUUUGAGGACGGGGGUGUAGUCACCGUAACCCAAG ACUCAAGCCUCCAAGACGGCGAGUUCUACAAGGUCA AACUGCGGGGGACUAACUUUCCGUCGGAUGGGCCCGUG AUGCAGAAGAAAACGAUGGGAUGGGAAGCGUCAUCGGA GAGGAUGUACCCAGAAGAUGGUGCAUUGAAGGGGGAGA UCAAGCAGAGACUGAAGUUGAAAAGAUGGGGGACAUAU GAUGCCGAGGUGAAAACGACAUACAAAGCGAAAAAGCCG GUGCAGCUUCCCCGAGCGUAUAAUGUGAAUAUCAAGUU GGAUAUUACUUCACACAAUGAGGACUACACAAUUGUCG AACAGUACGAACGCGCUGAGGGUAGACACUCGACGGGAG GCAUGGACGAGUUGUACAAA UGAUAAUAG GAUUCGUCAGUAGGGUUGUAAAGGUUUUUCUUUUCCU GAGAAAACAACCUUUUGUUUUCUCAGGUUUUGCUUUU UGGCCUUUCCCUAGCUUUAAAAAAAAAAAAAGCAAAAGUG GUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGCG	
ヒト MALAT1 配列を有 するG- CSF	T7ポリメラーゼ部位, コザック配列を含む最適化されたG-CSF cDNA配列, およびヒトMALAT1配列(太字): TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAAGAGTAAGAAGAAATATAAG AGCCACC ATGGCCGGTCCCGCGACCCAAAGCCCCATGAAACTTATGG CCCTGCAGTTGCTGCTTTGGCACTCGGCCCTCTGGACAGT CCAAGAAGCGACTCCTCTCGGACCTGCCTCATCGTTGCCG CAGTCATTCCTTTTGAAGTGTCTGGAGCAGGTGCGAAAAG TTCAGGGCGATGGAGCCGCACTCCAAGAGAAGCTCTGCGC GACATACAACTTTGCCATCCCGAGGAGCTCGTACTGCTCG GGCACAGCTTGGGGATTCCCTGGGCTCCTCTCTCGTCCTG TCCGTCGCAAGCTTTGCAGTTGGCAGGGTGCCTTTCCAG CTCCACTCCGTTTGTTCCTGTATCAGGGAAGCTGCTGCAAGC CCTTGAGGGAATCTCGCCAGAATTGGGCCCCGACGCTGGAC ACGTTGCAGCTCGACGTGGCGGATTTGCGAACAACCATCT GGCAGCAGATGGAGGAAGTGGGGATGGCACCCGCGCTGC AGCCACGCAGGGGGCAATGCCGGCCTTTGCGTCCGCGTT TCAGCGCAGGGCGGGTGGAGTCCTCGTAGCGAGCCACCTT CAATCATTTTTGGAAGTCTCGTACCGGGTGCTGAGACATCT TGGCGAGCCG TGATAATAG TGCTCTTCAGTAGGGTCATGAAGGTTTTTCTTTCTCTGAGA AAACAACACGTATTGTTTTCTCAGGTTTTGCTTTTTGCGCT TTTTCTAGCTTAAAAAAAAAAAAAGCAAAAGTGGTCTTTGA	7344

10

20

30

【表 0040-4】

	ATAAAGTCTGAGTGGGCGGCTCTAGA	
	mRNA配列(転写された): GGGAAAUAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUUAAGAGCCACC AUGGCCGGUCCCGCGACCCAAAGCCCCAUGAAACUUAUG GCCCUGCAGUUGCUGCUUUGGCACUCGGCCCCUCUGGAC AGUCCAAGAAGCGACUCCUCUGGACCUGCCUCAUCGU UGCCGCAGUCAUUCUUUUUGAAGUGUCUGGAGCAGGUG CGAAAGAUUCAGGGCGAUGGAGCCGCACUCCAAGAGAAAG CUCUGCGCGACAUAACAAACUUUGCCAUCCCGAGGAGCUC GUACUGCUCGGGCACAGCUUGGGGAUUCUUUGGGCUCC UCUCUCGUCCUGUCCGUCGCAGGCUUUGCAGUUGGCAG GGUGCCUUUCCAGCUCCACUCCGGUUUGUUCUUUGUAU CAGGGACUGCUGCAAGCCCUUGAGGGAAUCUCGCCAGAA UUGGGCCCGACGCUUGGACACGUUGCAGCUCGACGUGGC GGAUUUUCGCAACAACCAUCUGGCAGCAGAUUGGAGGAAC UGGGGAUGGCACCCGCGCUGCAGCCACGCAGGGGGCAA UGCCGGCCUUUGCGUCCGCGUUUCAGCGCAGGGCGGGU GGAGUCCUCGUAGCGAGCCACCUUCAUUAUUUUUGGA AGUCUCGUACCCGGUGCUGAGACAUCUUGCGCAGCCG UGAUAAUAG UGCUCUUCAGUAGGGUCAUGAAGGUUUUUUUUUUCCU GAGAAAACAACACGUAUUGUUUUUCUAGGUUUUGCUUU UUGGCCUUUUUCUAGCUUAAAAAAAAAAAAAGCAAAG UGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGCG	7345
ヒト MALAT1 配列を有 する mCherry	T7ポリメラーゼ部位, コザック配列を含む最適化された mCherry cDNA配列, およびヒトMALAT1配列(太字): TAATACGACTCACTATA GGGAAATAAGAGAGAAAAGAAGAGTAAGAAGAAATATAAG AGCCACC ATGCTATCCAAGGGGGAGGAGGACAACATGGCGATCATCA AGGAGTTCATGCGATTCAAGGTGCACATGGAAGGTTGCGT CAACGGACACGAATTTGAAATCGAAGGAGAGGGTGAAGGA AGGCCCTATGAAGGGACACAGACCGCGAAACTCAAGGTCA CGAAAGGGGGACCACTTCCTTTGCGCTGGGACATTCTTTC GCCCCAGTTTATGTACGGGTCCAAAGCATATGTGAAGCATC CCGCCGATATTCCTGACTATCTGAAACTCAGCTTTCCCGAG GGATTCAAGTGGGAGCGGGTCATGAACTTTGAGGACGGGG GTGTAGTCACCGTAACCCAAGACTCAAGCCTCCAAGACGG CGAGTTCATCTACAAGGTCAAACCTGCGGGGGACTAACTTT CCGTGCGATGGGCCGGTGATGCAGAAGAAAACGATGGGAT GGGAAGCGTCATCGGAGAGGATGTACCCAGAAGATGGTGC ATTGAAGGGGGAGATCAAGCAGAGACTGAAGTTGAAAGAT GGGGGACATTATGATGCCGAGGTGAAAACGACATACAAAG	7346

10

20

30

【表 0 0 4 0 - 5】

	CGAAAAAGCCGCTGCAGCTTCCCGGAGCGTATAATGTGAA TATCAAGTTGGATATTACTTCACACAATGAGGACTACACAA TTGTCGAACAGTACGAACGCGCTGAGGGTAGACACTCGAC GGGAGGCATGGACGAGTTGTACAAA TGATAATAG TGCTCTTCAGTAGGGTCATGAAGGTTTTTCTTTTCCTGAGA AAACAACACGTATTGTTTTCTCAGGTTTTGCTTTTTGGCCT TTTTCTAGCTTAAAAAAAAAAAAAGCAAAAGTGGTCTTTGA ATAAAGTCTGAGTGGGCGGCTCTAGA	
	mRNA配列(転写された): GGGAAAUAAGAGAGAAAAAGAGUAAGAAGAAAUUAA GAGCCACC AUGGUAUCCAAGGGGGAGGAGACAACAUGGCGAUCAU CAAGGAGUUCUUGCGAUUCAAGGUGCACAUGGAAGGUU CGGUCAACGGACACGAAUUUGAAAUCGAAGGAGAGGGU GAAAGGAGGCCCUAUGAAGGGACACAGACCGCGAAACUC AAGGUCACGAAAGGGGGACCACUCCUUUCGCCUGGGA CAUUCUUUCGCCCCAGUUUAUGUACGGGUCCAAAGCAU AUGUGAAGCAUCCCGCCGAUUAUCCUGACUAUCUGAAA CUCAGCUUCCCCGAGGGAUUCAAGUGGGAGCGGGUCAU GAACUUUGAGGACGGGGUGUAGUCACCGUAACCCAAG ACUCAAGCCUCCAAGACGGCGAGUUCUACAAGGUCA AACUGCGGGGGACUAACUUCCGUCGGAUGGGCCGGUG AUGCAGAAGAAAACGAUGGGAUGGGAAGCGUCAUCGGA GAGGAUGUACCCAGAAUGGUGCAUUGAAGGGGGAGA UCAAGCAGAGACUGAAGUUGAAAUGGGGGACAUUAU GAUGCCGAGGUGAAAACGACAUACAAAGCGAAAAAGCCG GUGCAGCUUCCCCGAGCGUAUAAUGUGAAUAUCAAGUU GGAUUAUACUUCACACAAUGAGGACUACACAAUUGUCG AACAGUACGAACGCGCUGAGGGUAGACACUCGACGGGAG GCAUGGACGAGUUGUACAAA UGAUAAUAG UGCUCUUCAGUAGGGUCAUGAAGGUUUUUCUUUUCCU GAGAAAACAACAGUAUUGUUUUCUCAGGUUUUGCUUU UUGGCCUUUUUCUAGCUUAAAAAAAAAAAAAGCAAAAG UGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC	7347

10

20

30

【1104】

これらの修飾されたmRNA配列は、本明細書に記載の少なくとも一つの化学的修飾を含むことができる。G-C S FまたはmCherry修飾mRNA配列を、本明細書に記載および／または当技術分野に周知の方法を用いて、形質移入および／または投与の前に製剤化することができる。

40

【1105】

G-C S FまたはmCherryをコードする修飾mRNA配列を、本明細書に開示の方法および／または当技術分野に周知の方法を使用して、様々な細胞型にin vitroの形質移入することができ、例えば、HEK293、HeLa、PBMCおよびBJ線維芽細胞および2013年6月27日に提出された同時係属中の米国仮出願第61/839903号（内容は参照により本明細書に取り込まれる）の表25に記載されているものが挙げられる。次に、細胞を本明細書に開示、および／または当技術分野周知の方法を用

50

いて分析し、G-C S Fまたはm C h e r r yの濃度、および／または細胞生存率を決定する。

【1106】

実施例50. 癌関連の標的

セプチン4は、対象の腫瘍関連ポリペプチドであり得る。目的の癌関連ポリペプチドをコードする遺伝子の名前と説明の他に、E N S E M B LトランスクリプトID (E N S T)、E N S E M B Lタンパク質ID (E N S P)を表41に示し、それぞれ適用可能な場合に存在し、最適化された配列番号(O P T. S E Q I D)が使用可能であるときに存在する。

表41. 癌関連の標的

【表0041】

標的	標的の記述	ENST ID	Trans. SEQ ID NO	ENSP ID	Prot. SEQ ID NO	OPT. SEQ ID NO
SEPT4	セプチン4	317256	7348	321071	7355	7363, 7368, 7375, 7382, 7389, 7396
SEPT4	セプチン4	317268	7349	321674	7356	7364, 7369, 7376, 7383, 7390, 7397, 7403-7489
SEPT4	セプチン4	393086	7350	376801	7357	7370, 7377, 7384, 7391, 7398
SEPT4	セプチン4	412945	7351	414779	7358	7365, 7371, 7378, 7385, 7392, 7399
SEPT4	セプチン4	426861	7352	402348	7359	7366, 7372, 7379, 7386, 7393, 7400
SEPT4	セプチン4	457347	7353	402000	7360	7367, 7373, 7380, 7387, 7394, 7401
SEPT4	セプチン4	583114	7354	463768	7361	7374, 7381, 7388, 7395, 7402
SEPT4	セプチン4					7362

【1107】

実施例51. 確認と化学修飾mRNAからのペプチド識別の確認

以下から産生されたタンパク質を含む細胞溶解物、以下、(a) アポトーシス誘導因子 1、ミトコンドリアの短いアイソフォーム (A I F s h、遺伝子名 A I F M 1) 修飾 m R N A (配列番号 6 6 1 7 (表 4 2) に示される m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、(b) 1 (C O M M D 1) 修飾 m R N A を含む銅代謝 (M u r r 1) 領域 (配列番号 7 4 9 1 (表 4 2) に示される m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、および (d) d i a b l o、I A P 結合性ミトコンドリアタンパク質 (D I A B L O) 修飾 m R N A (配列番号 7 4 9 4 (表 4 2) に示される m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、5-メチルシチジンおよびプソイドウリジン (5 m C および p U) で完全修飾され、5-メチルシチジンと 1-メチルプソイドウリジン (5 m C および 1 m p U) で完全修飾され、2-チオウリジンで修飾された 25% のウリジンおよび 5-メチルシチジンで修飾された 25% の 2-シチジン (s 2 U および 5 m C)、プソイドウリジン (p U) で完全修飾され、または 1-メチルプソイドウリジン (1 m p U) で完全修飾され、実施例 31 に記載されるように、定量的 L C-M R M の L C-M S / M S を使用して評価した。

表 4 2. 標的配列

【表 0 0 4 2 - 1】

記述	配列	配列番号
AIFsh	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAU AAGAGCCACCAUGGAAAAAGUCAGACGAGAGGGGGUU AAGGUGAUGCCCAAUGCUAUUGUGCAAUCCGUUGGA GUCAGCAGUGGCAAGUUACUUAUCAAGCUGAAAGACG GCAGGAAGGUAGAAACUGACCACAUAGUGGCAGCUGU GGGCCUGGAGCCCAAUGUUGAGUUGGCCAAGACUGG UGGCCUGGAAAUAAGACUCAGAUUUUGGUGGCUUCCG GGUAAAUGCAGAGCUACAAGCAGCUCUAACAUCUGG GUGGCAGGAGAUGCUGCAUGCUUCUACGAUAUAAAG UUGGGAAGGAGGCGGGUAGAGCACC AUGAUCACGCUG UUGUGAGUGGAAGAUUGGCUGGAGAAAAUAUGACUG GAGCUGCUAAGCCGUACUGGCAUCAGUCAAUUUCU GGAGUGAUUUUGGGCCCCGAUGUUGGCUAUGAAGCUA UUGGUCUUGUGGACAGUAGUUUGCCCACAGUUGGUG UUUUUGCAAAAGCAACUGCACAAGACAACCCCAAUC UGCCACAGAGCAGUCAGGAACUGGUAUCCGAUCAGAG AGUGAGACAGAGUCCGAGGCCUCAGAAUUACUAUUC CUCCAGCACCOCGGCAGUUCACAGGCUCUCCGUCCA GGGGGAGGACUACGGCAAAGGUGUCAUCUUCUACCU CAGGGACAAAAGUGGUCGUGGGGAUUGUGCUAUGGAA CAUCUUUAACCGAAUGCCAAUAGCAAGGAAGAUCAUU AAGGACGGUGAGCAGCAUGAAGAUUCUCAAUGAAGUAG CCAAACUAUUCACAUUCAUGAAGACUGAUAAUAGGC UGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCCCCUUGGGC CUCCCCCAGCCCCUCCUCCCCUCCUGCACCCGUAC CCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC	6617
	MEKVRREGVKVMPNATVQSVGVSSGKLLIKLKDGRKVE TDHIVAAGLEPNVELAKTGLEIDSDFGGFRVNAELQA RSNIWVGDAACFYDIKLGRRRVEHHDHAVVSGRLAGE NMTGAAPYWHQSMFWSDLGPDVGYEAIGLVDSLPTV GVFAKATAQDNPKSATEQSGTGIRSESETESEASEITIPPS TPAVPQAPVQGEDYKGVIFYLKDKVVVGIVLWNIFNRM PIARKIIKDGEQHEDLNEVAKLFNIHED	7490
COMMD1	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAU AAGAGCCACCAUGGCGGCGGGCGAGCUUGAGGGUGGC AAACCCUGAGCGGGCUGCUGAAUGCGCUGGCCAGG ACACUUUCCACGGGUACCCCGCAUCACAGAGGAGCU GCUACGGAGCCAGCUAUUCCAGAGGUGCCACCCGAG GAGUUCGCCCCUUCUGUGGCAAGAUAGGGGGGAUU CUUAAGUCUAUUGCGUCUGCAGACAUGGAUUUCAAC CAGCUGGAGGCAUUCUUGACUGCUAAACCAAAAAGC AAGGUGGGAUCACAUCUGACCAAGCUGCUGUCAUUU	7491

10

20

30

【表 0 0 4 2 - 2】

	CCAAAUUCUGGAAGAGCCACAAGACAAAAUCCGUGA GAGCCUCAUGAACAGAGCCGUGGAAUAGCGGGCUU CGGGGCCUGAGCUGGAGAGUUGAUGGCAAGUCUCAG UCAAGGCACUCAGCUCAAAUACACACACCUGUUGCCA UUAUAGAGCUGGAAUAGGCAAAUAGGACAGGAAUC UGAAUUUCUGUGUUUGGAAUUGAUGAGGUCAAAGU CAACCAAAUUCUGAAGACGCUGUCAGAGGUAGAAGAA AGUAUCAGCACACUGAUCAGCCAGCCUACUGAUAAU AGGCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUCUUGCCCCU GGGCCUCCCCCAGCCCCUCCUCCCUUCCUGCACCC GUACCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGC GGC	
	MAAGELEGGKPLSGLLNALAQDTFHGYPGITEELLRSQ LYPEVPPEEFRPFLAKMRGILKSIASADMDFNQLEAFLTA QTKKQGGITSDQAAVSKFWKSHKTKIRESLMNQSRWNS GLRGLSWRVDGKSQSRHSAQIHTPVAIIELELGKYGQSE FLCLEFDEVKVNQILKTLSEVEESISTLISQPN	7492
SEPT4	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAGUAAGAAGAAAUAU AAGAGCCACCAUGGACCGUUCACUGGGAUGGCAAGGG AAUUCUGUCCUGAGGACAGGACUGAAGCUGGGAUCA AGCGUUUCCUGGAGGACACCACGGAUGAUGGAGAACU GAGCAAGUUCGUGAAGGAUUUCUAGGAAUAGCGAG CUGCCACCCACCAGAGGCUAAGACCUGGGCAUCCAGG CCCCCAGUCCCGAGCCAAAGCCCCAGCCCCGAGCC UCUAUGAUGAUGACCUGGAGUUCAGACCCCCUCGCG GCCCCAGUCCUCUGACAACCAGCAGUACUUCUGUGCC CCAGCCCCUCUCAGCCCAUCUGCCAGGCCCCGAGCC CAUGGGGCAAGCUUGAUCCCUAUGAUUCCUCUGAGG AUGACAAGGAGUAUGUGGGCUUUGCAACCCUCCCCAA CCAAGUCCACCGAAAGUCCGUGAAGAAAGGCUUUGAC UUUACCCUCAUGGUGGCAGGAGAGUCUGGCCUGGGC AAUCCACACUUGUCAAUAGCCUCUCCUCACUGAUC UGUACCGGGACCGGAAACUUCUUGGUGCUGAAGAGA GGAUCAUGCAAACUGUGGAGAUACUAAGCAUGCAGU GGACAUAGAAGAGAAGGGUGUGAGGCUUGCGGCUACCC AUUGUGGACACACCAGGUUUUGGGGAUGCAGUCAAC AACACAGAGUGCUGGAAGCCUGUGGCAGAAUACAUG AUCAGCAGUUUGAGCAGUAUUUCCGAGACGAGAGUG GCCUGAACCGAAAAGACAUCCAAGACAACAGGGUGCA CUGCUGCCUGUACUUCACUUCACCCUUCGGCCAUGG GCUCCGGCCAUUGGAUGUUGAAUUGAUGAAGGCCCU GCAUCAGCGGGUCAACAUCUGGCCUAUCCUGGCUAAG GCAGACACACUGACACCUCGCCAAGUGGACCACAAGA AACGCAAAUCCGGGAGGAGAUUGAGCAUUUUGGAAU	7362

10

20

30

【表 0 0 4 2 - 3】

	CAAGAUCUAUCAAUCCCCAGACUGUGACUCUGAUGAG GAUGAGGACUUCAAAUUGCAGGACCAAGCCCUAAAAGG AAAGCAUCCCAUUGCAGUAAUUGGCAGCAACACUGU AGUAGAGGCCAGAGGGCGGCGAGUUCGGGGUCGACU CUACCCCUUGGGGCAUCGUGGAAUGGAAAAACCCAGGG CACUCGCACUUUGUGAAGCUGAGGACAAUGCUGGUA CGUACCCACAUGCAGGACCUGAAGGAUGUGACACGGG AGACACAUAUUGAGAACUACCGGGCACAGUGCAUCCA GAGCAUGACCCGCCUGGUGUGAAGGAACGGAAUCGC AACAAACUGACUCGGGAAAGUGGUACCGACUUCCTCA UCCUGCUGUCCCAACAGGGACAGAUCCAGAAACUGA GAAGCUUAUCCGAGAGAAAGAUGAGGAGCUGCGCGG AUGCAGGAGAUGCACACAAAUAACAAAACAGAUGA AGGAGAACUAUUGAUAUAGGCUUGGAGCCUCGGUGG CCAUGCUUCUUGCCCCUUGGGCCUCCCCCAGCCCCU CCUCCCCUCCUGCACCCGUACCCCGUGGUCUUUGA AUAAAGUCUGAGUGGGCGGC	
	MDRSLGWQGNVPEDRTEAGIKRFLEDTTDDGELSKFV KDFSGNASCHPPEAKTWASRPQVPEPRQAPDLYDDLE FRPPSRPQSSDNQYFAPLSPSARPRSPWGKLDPYDSSE DDKEYVGFATLPNQVHRKSVKKGFDFTLMVAGESGLGK STLVNSLFLTDLYRDRKLLGAEERIMQTVEITKHAVDIEE KGVRRLRLTIVDTPGFDAVNNTCEWKPAVEYIDQQFEQY FRDESGLNRKNIQDNRVHCCLYFISPFHGLRPLDVEFM KALHQRVNIVPILAKADTLTPPEVDHKKRKIREIEHFHGI KIYQFPDCDSDEDEDFKLQDQALKESIPFAVIGSNTVVEA RGRRVRGRLYPWGIVEVENPGHCDFVKLRTML VRTHMQDLKDVTRETHYENYRAQCIQSMTRLVVKERNR NKLTRESGTDFFIPAVPPGTDPETEKLIREKDEELRRMQE MLHKIQKQMKENY	7493
Diablo, IAP-結合ミ トコンドリ アタンパク 質 (DIABLO)	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUAU AAGAGCCACCAUGGCGGCUCUGAAGAGUUGGCUGUCG CGCAGCGUAACUUCUUCUUCAGGUACAGACAGUGU UUGUGUGUCCUGUUGUGGCUAACUUUAAGAAGCGG UGUUUCUCAGAAUUGAUAAGACCAUGGCACAAAACUG UGACGAUUGGCUUUGGAGUAACCCUGUGUGCGGUUC CUAUUGCACAGAAAUCAGAGCCUCAUCCCUUAGUAG UGAAGCAUUGAUGAGGAGAGCAGUGUCUUUGGUAAC AGAUAAGCACCUUCUACCUUUCUCUCUCAGACCACAUAU GCGUUGAUUGAAGCUAUUACUGAAUAUACUAAGGCU GUUUUAACCUUAACUUCUUCUUUACCGACAAUAUACA AGUUUACUUGGAAAAUGAAUUCAGAGGAGGAAGAU GAAGUGUGGCAGGUGAUCAUAGGAGCCAGAGCUGAGA UGACUUCAAAACACCAAGAGUACUUGAAGCUGGAAAC	7494

10

20

30

【表 0 0 4 2 - 4】

	CACUUGGAUGACUGCAGUUGGUCUUUCAGAGAUGGC AGCAGAAGCUGCAUAUCAAACUGGCGCAGAUAGGCC UCUAUAACCGCCAGGAAUCACAUUCAGCUGGUGAAAC UGCAGGUGGAAGAGGUGCACCAGCUCUCCCGGAAAGC AGAAACCAAGCUGGCAGAACACAGAUAGAAGAGCUC CGUCAGAAAACACAGGAGGAAGGGGAGGAGCGGGCUG AGUCGGAGCAGGAGGCCUACCUGCGUGAGGAUUGAU AAUAGGCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCCC CUUGGGCCUCCCCCAGCCCCUCCUCCCUUCCUGCA CCCGUACCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUG GGCGGC	
	MAALKSWLSRSVTSFFRYRQCLCVPVVANFKKRCFSELI RPWHKTVTIGFGVTLCAPVIAQKSEPHSLSEALMRRAVS LVTDSTSTFLSQTTYALIEAITEYTKAVYTLTSLYRQYTSLL GKMNSEEEDEVWQVIIGARAEMTSKHQEYLLKLETTWMT AVGLSEMAAEAAYQTGADQASITARNHIQLVKLQVEEVH QLSRKAETKLAEAQIEELRQKTQEEGEERAESEQEAYLR ED	1986

10

20

【 1 1 0 8 】

評価されたタンパク質について同定したペプチド断片を表 4 3 に示す。

表 4 3 . タンパク質およびペプチド断片配列

【表 0 0 4 3】

	ペプチド断片 の配列番号	5mC および pU	5mC および 1mpU	s2U および 5mC	pU	1mpU
AIFM1						
DGEQHEDLNEVA K	7495	-	-	-	-	あり
TGGLEIDSDFGGF R	7496	あり	-	-	あり	あり
COMMD1						
ESLMNQSR	7497	あり	あり	あり	あり	あり
HSAQIHTPVAIIEL ELGK	7498	-	-	あり	あり	あり
WNSGLR	7499	-	あり	あり	あり	あり
SEPT4						
ESGTDFFPIPAVPP GTDPETEK	7500	あり	あり	あり	あり	あり
FLEDTTDDGELS K	7501	あり	あり	あり	あり	あり
HAVDIEEK	7502	あり	あり	あり	あり	あり
DIABLO						
AVYTLTSLYR	7503	あり	あり	あり	あり	あり
LAEAQIEELR	7504	あり	あり	あり	あり	あり
NHIQLVK	7505	あり	あり	あり	あり	あり

【1109】

実施例 5 2. C. A. カスパーゼ 3 および C. A. カスパーゼ 6 の検出

ヒト肺癌 A 5 4 9 細胞を 6 ウェルに播種し、リポフェクタミン 2 0 0 0 (L i f e T e c h n o l o g i e s) および 5 μ g の構成的活性型 (C. A.) カスパーゼ 3 m R N A を形質移入した (配列番号 6 6 1 9 (表 4 4) に示される m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 スクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) または構成的活性型 (C. A.) カスパーゼ 6 m R N A (配列番号 7 5 0 6 (表 4 4) に示される m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 スクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) を形質移入し、当該修飾 m R N A は、5 メチルシチジンおよび 1-メチルプソイドウリジン (5 M C および 1 m p U) で完全修飾され、1-メチルプソイドウリジン (1 m p U) で完全修飾された。細胞を、形質移入から 7 ~ 1 0 時間後に収集し、プロテアーゼ阻害剤カクテル (R o c h e、インディアナポリス、インディアナ) を含む R I P A 緩衝液に溶解した。レーンあたり 2 0 μ g の細胞溶解物に、ウェスタンブロットを実行し、内因性および導入されたカスパーゼ 3、内因性および導入されたカスパーゼ 6、カスパーゼ 3 下流基質 P A R P およびカスパーゼ 6 下流基板ラミン A / C を検出した。対照の溶解物と比較して、C. A. カスパーゼ 3 および C. A. カスパーゼ 6 修飾 m R N A が形質移入された細胞に、それぞれ、高いレベルの切断されたカスパーゼ 3 および切断されたカスパーゼ 6 を検出した。図 7 に示すように、下流の基質の P A R P およびラミン A / C の切断が、C. A. カスパーゼ 3 修飾 m R N A (図 7 A) および C. A. カスパーゼ 6 修飾 m R N A (図 7 B) で処理した細胞で検出された。図 7 A および 7 B に示したウェスタンブロットの 5 つレーンは、1) 形質移入されていない H e L a 細胞、2) 形質移入さ

れていない A 5 4 9 5 M C、3) A 5 4 9 のリボフェクタミンのみの対照、4) 5 m C、1 m p U 修飾 m R N A を形質移入された A 5 4 9 からの溶解物を含む。

表 4 4 . C . A . カスパーゼ配列

【表 0 0 4 4 - 1】

記述	配列	配列番号
C.A. カスパーゼ 3	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUA UAAAGAGCCACCAUGAUUGAGACAGACAGUGGUGUUG AUGAUGACAUGGCGUGUCAUAAAAUACCAGUGGAGG CCGACUUCUUGUAUGCAUACUCCACAGCACCUGGUU AUUAUUCUUGGCGAAAUAUCAAAGGAUGGCUCUUGGU UCAUCCAGUCGCUUUGUGCCAUGCUGAAACAGUAUG CCGACAAGCUUGAAUUAUGCACAUCUUAACCGGG UUAACCGAAAGGUGGCAACAGAAUUGAGUCCUUUU CCUUUGACGCUACUUUCAUGCAAAGAAACAGAUUC CAUGUAUUGUUUCCAUGCUCACAAAAGAACUCUAUU UUUAUCACGAUGAAGUUGAUGGGGGAUCCCCAUGG AGAACACUGAAAACUCAGUGGAUUCAAAUAUCCAUA AAAAUUUGGAACCAAAGAUCAUACAUGGAAGCGAAU CAAUGGACUCUGGAAUAUCCUGGACAACAGUUAUA AAUUGGAUUAUCCUGAGAUGGGUUUAUGUAUAAUAA UUAAUAAUAAAGAAUUUCAUAAGAGCACUGGAAUGA CAUCUCGGUCUGGUACAGAUUGCGAUGCAGCAAACC UCAGGGAAACAUAUCAGAAACUUGAAAUAUGAAGUCA GGAAUAAAAAUGAUCUUACACGUGAAGAAAUUGUGG AAUUGAUGCGUGAUGUUUCUAAAGAAGAUACACAGCA AAAGGAGCAGUUUUGUUUGUGUGCUUCUGAGCCAU GGUGAAGAAAGGAUAAUUUUUGGAACAAUUGGACCU GUUGACCUGAAAAAAUAACAAACUUUUUCAGAGGG GAUCGUUGUAGAAGUCUAAACUGGAAAACCCAAACUU UUCAUUAUUCAGGCCUGCCGUGGUACAGAACUGGAC UGUGGCAUUGAGACAGACUGAUAAUAGGCUGGAGCC UCGGUGGCCAUGCUCUUGCCCCUUGGGCCUCCCC CAGCCCCUCCUCCCCUCCUGCACCCGUACCCCGUG GUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC	6619
	MIETDSGVDDDMACHKIPVEADFLYAYSTAPGYYSWRN SKDGSWFIQSLCAML KQYADKLEFMHILTRVNRKVATEFESFSFDATFHAKKQI PCIVSML TKELYFYHDEVDGGSPMENTENSVDSSIKNLEPKIIHG SESMDSGISLDNSYKMDYPEMGLCIHNNKNFHKSTGM TSRSGTDVDAANLRETFRNLYEVRNKNDLTREEIVEL MRDVSKEDHSKRSSFVCLVLSHGEEGHIFGTNGPVDLK KITNFFRGDRCSRSLTGKPKLFIIQACRGTELDGCIETD	2484
C.A. カスパーゼ 6	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUA UAAAGAGCCACCAUGGUAGAAUAGAUGCAGCCUCCG UUUACACGCUGCCUGCUGGAGCUGACUCCUCAUGU GUUACUCUGUUGCAGAAGGAUAUUAUUCACACCGG	7506

10

20

30

40

【表 0 0 4 4 - 2】

	AAACUGUGAACGGCUCAUGGUACAUAUUAAGAUUUGU GUGAGAUGUUGGGAAAAUAUGGCUCUCCUUAGAGU UCACAGAACUCCUCACACUGGUGAACAGGAAAGUUU CUCAGCGCCGAGUGGACUUUUGCAAAAGACCAAGUG CAAUUGGAAAGAACGAGGUUCCUGUUUUGCCUCA UGCUAAAUAAAAAGCUGCAUUUCUUUCCAAAAUCUA AUCUCGAGCACCACCACCACCACCGUUGAAAUUGA UGGGGGAUCCCCCAUGAGCUCGGCCUCGGGGCUCGG CAGGGGGCACC CGCAGGUGGGGAAGAAAACAUAGAC AGAAACAGAUGCCUUCUAUAAAAAGAGAAUUGUUUGA UCCGCGAGAAAAGUACAAAAUGGACCACAGGAGGAGA GGAAUUGCUUUAUCUUCUAAUCAUGAGAGGUUCUU UUGGCACUUAACACUGCCAGAAAGGCGGGGACCGUG CGCAGAUAGAGACAAUCUUACCCGCGAGUUUUCAGA UCUAGGAUUUGAAGUGAAAUGCUUUAUUGAUCUUA AAGCAGAAAGAACUACUGCUCAAAAUUCUAGAGGUGU CAACUGUUAGCCACGCAGAUGCCGAUUGCUUUGUGU GUGUCUCCUGAGCCAUGGCGAAGGCAUUCACAUUU AUGCAUAUGAUGCUAAAAUCGAAAUUCAGACAUUAA CUGGCUUGUUCAAAGGAGACAAGUGUCACAGCCUGG UUGGAAAACCCAAAGAUUUUAUCAUCCAGGCAUGUC GGGGAAACCAGCACGAUGUGCCAGUCAUCCUUUGG AUGUAGUAGAUUGAUAAUAGGCUUGAGCCUCGGUGG CCAUUCUUCUUGCCCCUUGGGCCUCCCCCAGCCCC UCCUCCCCUCCUGCACCCGUACCCCGUGGUCUUU GAAUAAAGUCUGAGUGGGCGGC	
	MVEIDAASVYTLPA GADFLMCYSVAEGYYSHRETVNGS WYIQDLCEML GKYGSSLEFTELLTLVNRKVSQRRVDFCKDPSAIGKKQV PCFASML TKKLHFFPKSNLEHHHHHHVEIDGGSPMSSASGLRRG HPAGGEENMTETDAFYKREMPDPAEKYKMDHRRRGIA LIFNHERFFWHLTLPERRGTCADRDNLTRRFSDLGFEV KCFNDLKAEEELLLKIHEVSTVSHADADCFVCVFLSHGE GNHIYAYDAKIEIQTTLTGLFKGDKCHSLVGKPKIFIIQAC RGNQHDVPVIPLDVVD	2486

10

20

30

【1110】

実施例 53. 修飾 C. A. カスパーゼ 3 および C. A. カスパーゼ 6 mRNA の発現
培養ヒト肺腺癌 A549 細胞の活性を、WST-1 基質 (Roche、インディアナボ
リス、インディアナ州) のミトコンドリアデヒドロゲナーゼによって変換されたホルマザ
ンを測定することによって評価した。96 ウェルあたり 7500 の細胞を、様々な用量の
リポフェクタミン 2000 リポプレックス化構成的活性型 (C. A.) カスパーゼ 3 mRNA
(配列番号 6619 (表 44) に示される mRNA、配列には示されていない約 140
ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) または構成的活性型 (C. A.
) カスパーゼ 6 mRNA (配列番号 7506 (表 44) に示される mRNA 配列、配列
には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) は
完全に 1-メチルプソイドウリジン (5mC および 1mpU) で完全修飾され、1-メチ
ルプソイドウリジン (1mpU) もしくは対照タンパク質 (eGFP (配列番号 7507

40

50

に示されるmRNA)で完全修飾され、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジン(5MCおよび1mpU)で完全修飾され、または1-メチルプソイドウリジン(1mpU)およびルシフェラーゼで完全修飾され、(配列番号7508に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジン(5MCおよび1mpU)で完全修飾され、または1-メチルプソイドウリジン(1mpU)で完全修飾された))の単回投与で処理した。細胞活性は、WST-1製造業者のプロトコルに従ってmRNAの処置から1日後に培養した細胞で測定し、バックグラウンドシグナルについて補正された変換されたホルマザンの450nmの吸光度の読み取りとしてプロットされる。表45に示すように、形質移入されたC. A. カスパーゼmRNA(0ng、2ng、10ng、50ngおよび250ng)の量が増加し、対照と比較して(細胞活性の読み出しのときに)光学密度(OD)シグナルを著しく阻害した。同様の結果が、ヒト肺腺癌H441細胞およびヒト子宮頸癌HeLa細胞で得られた。

表45. 細胞活性

【表 0 0 4 5】

記述	mRNAの量 (ng)	WST-1 OD平均(450- 690 nm)
C.A. カスパーゼ 3 (1mpUおよび5mC)	0	2.46
	2	1.93
	10	1.05
	50	0.31
	250	0.04
C.A. カスパーゼ 6 (1mpUおよび5mC)	0	2.49
	2	2.41
	10	1.64
	50	0.75
	250	0.30
eGFP (1mpUおよび 5mC)	0	2.37
	2	2.36
	10	2.19
	50	1.84
	250	1.84
ルシフェラーゼ (1mpU および5mC)	0	2.26
	2	1.93
	10	2.00
	50	1.94
	250	1.87
C.A. カスパーゼ 3 (1mpU)	0	2.62
	2	2.35
	10	1.80
	50	0.91
	250	0.17
C.A. カスパーゼ 6 (1mpU)	0	2.17
	2	2.34
	10	2.01
	50	1.29
	250	0.42
eGFP (1mpU)	0	2.56
	2	2.67
	10	2.86
	50	2.72
	250	2.38
ルシフェラーゼ (1mpU)	0	2.12
	2	2.56
	10	2.68
	50	2.64
	250	2.21

10

20

30

【1111】

実施例 5 4. MYC 阻害剤で修飾された mRNA

40

ヒト肝細胞癌 HEP3B 細胞を 3×10^6 細胞／ウェルの播種密度で 6 ウェルプレートに播種し、mRNA を形質移入したりポフェクタミン-2000 は、5 メチルシチジンおよび 1-メチルプソイドウリジン (5 MC および 1 mpU) で完全修飾され、または 1-メチルプソイドウリジン (1 mpU) で完全修飾され、以下をコードするように設計され、以下、蛍光タンパク質 mCherry (配列番号に示される mRNA 配列 6602、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、非翻訳可能な第 IX 因子 (配列番号 7509 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、完全長の野生型 C-MYC 配列番号に示される (配列番号 7510 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、M

50

Y C 阻害剤 A (配列番号 7 5 1 1 (表 4 6) に示される m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、M Y C 阻害剤 B (配列番号 7 5 1 3 (表 4 6) に示される m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、M Y C 阻害剤 C (配列番号 7 4 1 8 (表 4 6) に示される m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、M Y C 阻害剤 D (配列番号 7 5 1 5 (表 4 6) に示される m R N A 配列、列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)。細胞を、形質移入から 8 時間後に収集し、溶解物を、プロテアーゼ阻害剤カクテル (R o c h e、インディアナポリス、インディアナ州) を含む R I P A 溶解緩衝液を用いて作製した。B C A アッセイにより決定された等量の溶解物を、4 ~ 1 2 % のビスートリス ゲルを介して S D S - P A G E により溶解し、ニトロセルロースブロットに移動させ、適切な一次抗体および二次抗体でプローブした。ウェスタンブロットは、H E P 3 B 細胞で、4 つ修飾 m R N A M Y C 阻害剤の陽性発現および全長 C - M Y C を明らかにした。

表 4 6 . M Y C 阻害剤配列

【表 0 0 4 6 - 1】

記述	配列	配列番号
MYC阻害剤 A	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUA UAAGAGCCACCAUGACCGAAGAAAACGUCAAGAGAAAG AACCCAUAAUGUCCUCGAGCGCCAGCGGCGCAAUGA GCUCAAGCGCAGCUUCUUUGCACUCAGGGACCAAAU UCCAGAGUUGGAGAACAAACGAAAAGGCCCCGAAGGU GGUGAUCCUUAAGAAGGCGACUGCCUACAUCUGUC GGUGCAGGCGUGAGACUAAAAGCUGAUCUCCGAAAU CGAUCUGCUCGCGAAACAGAACGAACAACUGAAACAC AAACUGGAACAGCUGCGGAAUUCAGCGCGUGAUAA UAGGCUUGGAGCCUCGUGGCGCAUGCUUCUUGCCCCU UGGGCCUCCCCCAGCCCCUCCUCCCCUCCUGCACC CGUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGG CGGC	7511
	MTEENVKRRTHNVLERQRRNELKRSFFALRDQIPELEN NEKAPKVVILKKATAYILSVQAETQKLISEIDLLRKQNEQ LKHKLEQLRNSCA	7512
MYC阻害剤 B	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUA UAAGAGCCACCAUGACCGAAGAAAACGUCAAGAGAAAG AACCCAUAAUGUCCUCGAGCGCCAGCGGCGCAAUGA GCUCAAGCGCAGCUUCUUUGCACUCAGGGACCAAAU UCCAGAGUUGGAGAACAAACGAAAAGGCCCCGAAGGU GGUGAUCCUUAAGAAGGCGACUGCCUACAUCUGUC GGUGCAGGCGUGAGAAUCAAAGCUGAUCUCCGAAAU CGAUCUGCUCGCGAAACAGAACGAACAACUGAAACAC AAACUGGAACAGCUGCGGAAUUCAGCGCGUGAUAA UAGGCUUGGAGCCUCGUGGCGCAUGCUUCUUGCCCCU UGGGCCUCCCCCAGCCCCUCCUCCCCUCCUGCACC CGUACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGG CGGC	7513
	MTEENVKRRTHNVLERQRRNELKRSFFALRDQIPELEN NEKAPKVVILKKATAYILSVQAENQKLISEIDLLRKQNE QLKHKLEQLRNSCA	7514
MYC阻害剤 C	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAGAAGAAAUA UAAGAGCCACCAUGAGCGCCGCGUGAUAAAGCGGGCUC ACCACAAUGCGUUGGAGAGGAAGAGGCGCGACCACA UCAAGACUCGUUCCAUUCACUCCGGGACUCCGUGC CGUCGUGCAAGGAGAAAAAGCCUCCCGGGCACAGA UCCUCGACAAGGCGACUGAGUACAUCAGUACAUGC GCCGCAAGAACCACACCCAUCAGCAAGAUUUCGACGA UCUUAAAGAGACAGAACGCGCUGCUGGAACAACAGGU CCGCGCACUGGAAAAGGCCAGAACGUCAGCCUGAUAA UAGGCUUGGAGCCUCGUGGCGCAUGCUUCUUGCCCCU UGGGCCUCCCCCAGCCCCUCCUCCCCUCCUGCACC	7515

10

20

30

【表 0 0 4 6 - 2】

	CGUACCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGG CGGC	
	MSAADKRAHHNALERKRRDHIKDSFHSRLRDSVPSLQGE KASRAQILDKATEYIQYMRRKNHTHQQDIDDLKRQNAL LEQQVRALEKARSSA	7516
MYC阻害剤 D	GGGAAAUAAGAGAGAAAAGAAGAGUAAAGAAGAAAUA UAAGAGCCACCAUGACCGAAGAAAACGUCAAGAGAAG AACCCAUAAUGUCCUCGAGCGCCAGCGCGCAAUGA GCUCAAGCGCAGCUUCUUUGCACUCAGGGACCAAAU UCCAGAGUUGGAGAACACGAAAAGCCCCGAAGGU GGUGAUCCUUAAGAAGGCGACUGCCUACAUCUGUC GGUGCAGGCUGAGACUAAAAGCUGAUCUCCGAAA CGAUCUGCUCCGAAACAGAACGAACACUGAAACAC AAACUGGAACAGCUGCGGAUUCAUGCUGAUAAUAG GCUGGAGCCUCGGUGGCCAUGCUUCUUGCCCCUUGG GCCUCCCCCAGCCCCUCCUCCCUUCCUGCACCCGU ACCCCCGUGGUCUUUGAAUAAAGUCUGAGUGGGCGG C	6621
	MTEENVKRRTHNVLERQRRNELKRSFFALRDQIPELEN NEKAPKVILKKATAYILSVQAETQKLISEIDLLRKQNEQ LKHKLEQLRNSC	7517

10

20

【1 1 1 2】

実施例 5 5. MYC 阻害剤で修飾された mRNA の発現

Hep 3 B 細胞を、2500 細胞／ウェルの播種密度で 96 ウェルプレートに播種し、0、0.2 nM、0.7 nM、2 nM または 6 nM の修飾 mRNA を形質移入したりポフェクタミン 2000 は、1-メチルプソイドウリジン (1 mpU) で完全修飾され、以下をコードするように設計され、以下、mCherry (配列番号 6602 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、非翻訳可能な第 IX 因子 (配列番号 7509 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、完全長の野生型 C-MYC (配列番号 7510 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、MYC 阻害剤 A (配列番号 7511 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、MYC 阻害剤 B (配列番号 7513 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)、MYC 阻害剤 C (配列番号 7515 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1) および MYC 阻害剤 D (配列番号 6621 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1)。細胞活性を、製造業者の指示 (Roche、インディアナポリス、インディアナ州) に従って WST-1 を用いた形質移入から 48 時間後に測定した。吸光度の読み取りを、WST-1 を添加してから 4 時間後に、450 nm 収集し、バックグラウンド補正された結果を表 47 に示す。阻害剤 (MYC 阻害剤 A、MYC 阻害剤 B、MYC 阻害剤 C、および MYC 阻害剤 D) のそれぞれの 3 つ最高濃度は、対照に比べ吸光度信号を減少させた。

30

40

表 4 7. 細胞の活動

【表 0 0 4 7】

説明	mRNA の量(nM)	WST-1 OD平均(450- 690 nm)
MYC 阻害剤 A	0	0.45
	0.2	0.42
	0.7	0.09
	2	0.12
	6	0.05
MYC 阻害剤 B	0	0.67
	0.2	0.69
	0.7	0.24
	2	0.09
	6	0.05
MYC 阻害剤 C	0	0.73
	0.2	0.73
	0.7	0.34
	2	0.09
	6	0.04
MYC 阻害剤 D	0	0.74
	0.2	0.68
	0.7	0.32
	2	0.14
	6	0.07
mCherry	0	0.66
	0.2	0.66
	0.7	0.62
	2	0.60
	6	0.51
翻訳不可能なFIX	0	0.65
	0.2	0.65
	0.7	0.61
	2	0.62
	6	0.49
野生型MYC	0	0.58
	0.2	0.51
	0.7	0.51
	2	0.51
	6	0.46

10

20

30

【1113】

実施例 56. 修飾 mRNA の *in vivo* 発現

40

A. BALB/C ノードマウス

BALB/c ノードマウスに、miR-122 結合部位のない 0.1 ミリグラム/kg のルシフェラーゼ修飾 mRNA を静脈投与し（「非標的 mRNA」、配列番号 7518 に示される mRNA、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシチジンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された）、当該ルシフェラーゼ修飾 mRNA は、表 48 に記載の脂質ナノ粒子、またはルシフェラーゼ修飾 mRNA は、表 49 に記載の脂質ナノ粒子中に製剤化された 3' UTR に miR-122 結合部位を有するルシフェラーゼ修飾 mRNA で製剤化された（「miR-122 標的 mRNA」、配列番号 7519 に示される mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシチ

50

ジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)である。

表48. 非標的mRNAの脂質ナノ粒子

【表0048】

LNP	ルシフェラーゼ:非標的mRNA
脂質	DLin-KC2-DMA
脂質/RNA wt/wt	20
平均サイズ	73.3 nm PDI: 0.06

10

表49. 標的mRNAの脂質ナノ粒子

【表0049】

LNP	ルシフェラーゼ: 標的mRNA
脂質	DLin-KC2-DMA
脂質/RNA wt/wt	20
平均サイズ	70.6 nm PDI: 0.08

20

【1114】

処置から24時間後、動物に麻酔をかけ、ルシフェラーゼ基質D-ルシフェリンを注射し、15分後に、生きている動物からの生物発光イメージング(BLI)をIVISイメージャーで評価した。シグナルが非標的mRNAを注射した動物から、およびmiR-122標的mRNAから得られ、表50に示す。miR-122標的mRNAで処理した動物の肝臓から産生される全体の光シグナルは、非標的mRNAより29倍低く、3'UTRの操作された要素が正常組織のタンパク質発現を阻害し得ることを示している。

30

表50. 操作されたmiR122結合部位によって調整された修飾mRNAのin vivo発現

【表0050】

記述	肝からのルシフェラーゼシグナル (フォトン/秒)
非標的mRNA	7.9×10^7
miR-122標的mRNA	2.7×10^6

40

【1115】

B. 肝細胞癌Hep3B細胞を有するBALB/cヌードマウス

BALB/cヌードマウスの肝臓内に、 2×10^6 の肝細胞癌HEP3B細胞を移植し、同所性腫瘍が24日間で増殖した。腫瘍を有するマウスに、miR-122結合部位のない0.1mg/kgのルシフェラーゼ修飾mRNAを静脈投与し、当該修飾mRNAは、「非標的mRNA」、配列番号7518に示されるmRNA7518、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)または3'UTRにmiR-122結合部位を有するルシフェラーゼ修飾mRNA(「miR-122標的mRNA」

50

A」配列番号7519に示されるmRNA、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5メチルシチジンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)であり、当該ルシフェラーゼ修飾mRNAは、表45に記載の脂質ナノ粒子中に製剤化された。処理から24時間後の動物に麻酔をかけ、ルシフェラーゼ基質D-ルシフェリンを注射し、20分後に、生きている動物からの生物発光イメージング(BLI)をIVISイメージャーで評価した。隣接する正常肝臓と比較して、同所性腫瘍からの信号を定量化、およびmiR-122標的mRNAは、正常肝臓と比較して腫瘍において2倍の濃縮にわたって達成された脂質ナノ粒子を介して、全身に送達された。

【1116】

実施例57. miR-122配列で修飾された核酸

A. HeLa細胞

HeLa細胞を100μlの細胞培地(DMEM+10%FBS)中、ウェル当たり15,000の密度で播種した。3'UTRにmiR-122の配列を有するG-CSF mRNA(G-CSF miR122、配列番号7325に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)または3'UTRに種配列のないmiR-122の配列を有するG-CSF mRNA配列(G-CSF種なし、配列番号7327に示されるmRNA、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾)を、96ウェルプレート中、75ngのmRNAの濃度でウェル当たり0.3μlのリポフェクタミン2000を形質移入した。上清は形質移入後、16~18時間の間に収集し、G-CSFの発現をELISAにより測定し、結果を表51に示す。

表51. HeLaのG-CSF細胞発現

【表0051】

記述	タンパク質発現 (ng/ml)
G-CSF miR122	292.1
G-CSF種なし	335.7

【1117】

B. 初代ヒトおよびラット肝細胞細胞

初代ヒトまたはラット肝細胞細胞を500μlの細胞培養培地中でウェルあたり350,000細胞の密度で播種した(in vitro GRO CPおよびIn Vitro GRO HI培地+2.2%のTorpedo Antibiotic Mix)。3'UTRにmiR-122の配列を有するG-CSF mRNA(G-CSF miR122、配列番号7520に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾)または3'UTRにG-CSFの種配列のないmiR-122配列を有するG-CSF mRNA(G-CSF種なし、配列番号7521に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)を、一次ヒト肝細胞および初代ラット肝細胞について24ウェルプレート中、ウェルあたり500ngのmRNAの濃度で、ウェル当たり1μlのリポフェクタミン2000を形質移入した。上清は形質移入後、16~18時間の間に収集し、G-CSFの発現をELISAにより測定し、結果を表52に示す。mRNAのmiR-122結合部位配列

は、初代肝細胞の G-C S F タンパク質の発現の勢いを弱める。

表 5 2. 肝細胞の G-C S F 発現

【表 0 0 5 2】

記述	初代ヒト肝細胞	初代ラット肝細胞
	タンパク質発現(ng/ml)	タンパク質発現(ng/ml)
G-CSF miR122	116	26
G-CSF種なし	463	85

10

【1 1 1 8】

実施例 5 8. m i r - 1 2 2 配列を有する修飾された核酸の時間経過

A. H e L a 細胞

H e L a 細胞を 1 0 0 μ l の細胞培地 (D M E M + 1 0 % F B S) 中、ウェル当たり 1 7 , 0 0 0 の密度で播種した。3 ' U T R に m i R - 1 2 2 配列を有さない G - C S F m R N A (G - C S F 、配列番号 7 3 2 1 に示されるマウス 3 ' U T R m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5 ' キャップ、キャップ 1 。 5 - メチルシトシンおよび 1 - メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号 7 3 2 0 に示されるヒト 3 ' U T R m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5 ' キャップ、キャップ 1 、 5 - メチルシトシンおよび 1 - メチルプソイドウリジンで完全修飾された) 、 3 ' U T R に m i R - 1 2 2 配列を有する G - C S F m R N A (G - C S F m i R 1 2 2 、配列番号 7 3 2 5 に示される 3 ' U T R m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5 ' キャップ、キャップ 1 、 5 - メチルシトシンおよび 1 - メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号 7 3 2 2 に示されるヒト 3 ' U T R m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5 ' キャップ、キャップ 1 、 5 - メチルシトシンおよび 1 - メチルプソイドウリジンで完全修飾された) 、 3 ' U T R に m i R - 1 2 2 種配列を有する G - C S F m R N A (G - C S F 種、配列番号 7 3 2 6 に示されるマウス 3 ' U T R m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5 ' キャップ、キャップ 1 。 5 - メチルシトシンおよび 1 - メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号 7 3 2 3 に示されるヒト 3 ' U T R m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5 ' キャップ、キャップ 1 、 5 - メチルシトシンおよび 1 - メチルプソイドウリジンで完全修飾された) 、 3 ' U T R に種配列のない m i R - 1 2 2 配列を有する G - C S F m R N A (G - C S F 種なし、配列番号 7 3 2 7 に示されるマウス 3 ' U T R m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5 ' キャップ、キャップ 1 、 5 - メチルシトシンおよび 1 - メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号 7 3 2 4 に示されるヒト 3 ' U T R m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5 ' キャップ、キャップ 1 、 5 - メチルシトシンおよび 1 - メチルプソイドウリジンで完全修飾) 、 3 ' U T R に m i R - 1 2 2 配列のない第 I X 因子 m R N A (F I X 、配列番号 7 3 2 9 に示されるマウス 3 ' U T R m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5 ' キャップ、キャップ 1 、 5 - メチルシトシンおよび 1 - メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号 7 3 2 8 に示されるヒト 3 ' U T R m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5 ' キャップ、キャップ 1 、 5 - メチルシトシンおよび 1 - メチルプソイドウリジンで完全修飾された) 、 3 ' U T R に m i R - 1 2 2 配列を有する第 I X 因子 m R N A (F I X m i R 1 2 2 、配列番号 7 3 3 3 に示されるマウス 3 ' U T R m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5 ' キャップ、キャップ 1 、 5 - メチルシトシンおよび 1 - メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号 7 3 3 0 に示されるヒト 3 ' U T R m R N A 配列、配列には示されていない約 1 4 0 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5 ' キ

20

30

40

50

ャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)、3'UTRにmiR-122の種配列を有する第IX因子mRNA(FIX種、配列番号7334に示されるマウス3'UTR mRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号7331に示されるヒト3'UTR mRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)または3'UTRに種配列のないmiR-122配列を有する第IX因子mRNA(FIX種なし、配列番号7335に示されるマウス3'UTR mRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号7332に示されるヒト3'UTR mRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)を6ウェルプレートにウェルあたり75 ngのmRNAの濃度でリポフェクタミン2000のウェルあたり0.3 μlを形質移入した。上清を形質移入後16~18時間の間に収集し、G-CSFまたは第IX因子の発現をELISAにより測定し、結果を表53に示す。

表53. HeLaの発現

【表0053】

記述	タンパク質発現Mm 3'UTR (ng/ml)	タンパク質発現Hs 3'UTR (ng/ml)
G-CSF	271.72	69.4
G-CSF miR122	305.36	68.8
G-CSF種	209.5	98.0
G-CSF種なし	243.2	80.9
FIX	249.8	131.6
FIX miR122	204.6	55.4
FIX種	290.05	127.6
FIX種なし	180.9	31.6

【1119】

B. 初代ヒトおよびラット肝細胞

初代ヒトまたはラット肝細胞細胞を、500 μlの細胞培養培地中でウェルあたり350,000の細胞密度で播種した(in vitro GRO CPおよびIn Vitro GRO HI培地+2.2%のTorpedo Antibiotic)。3'UTRにmiR-122配列を有さないG-CSF mRNA(G-CSF、配列番号7321に示されるマウス3'UTR mRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号7320に示されるヒト3'UTR mRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)、3'UTRにmiR-122配列を有するG-CSF mRNA(G-CSF miR122、配列番号7325に示される3'UTR mRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号7322に示されるヒト3'UTR mRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、

5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)、3'UTRにmiR-122種配列を有するG-CSF mRNA(G-CSF種、配列番号7326に示されるマウス3'UTR mRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1。5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号7323に示

されるヒト 3' UTR mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシトシンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)、3' UTR に種配列のない miR-122 配列を有する G-C S F mRNA (G-C S F 種なし、配列番号 7327 に示されるマウス 3' UTR mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシトシンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号 7324 に示されるヒト 3' UTR mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシトシンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)、3' UTR に miR-122 配列のない第 I X 因子 mRNA (F I X、配列番号 7329 に示されるマウス 3' UTR mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシトシンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号 7328 に示されるヒト 3' UTR mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシトシンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)、3' UTR に miR-122 配列を有する第 I X 因子 mRNA (F I X miR122、配列番号 7333 に示されるマウス 3' UTR mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシトシンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号 7330 に示されるヒト 3' UTR mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシトシンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾)、第 3' UTR に miR-122 の種配列を有する I X 因子 mRNA (F I X 種、配列番号 7334 に示されるマウス 3' UTR mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシトシンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号 7331 に示されるヒト 3' UTR mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシトシンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された) または 3' UTR に種配列のない miR-122 配列を有する第 I X 因子 mRNA (F I X 種なし、配列番号 7335 に示されるマウス 3' UTR mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシトシンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾され、配列番号 7332 に示されるヒト 3' UTR mRNA 配列、配列には示されていない約 140 ヌクレオチドのポリ A 尾部、5' キャップ、キャップ 1、5-メチルシトシンおよび 1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された) を一次ヒト肝細胞および初代ラット肝細胞について 24 ウェルプレート中、ウェルあたり 500 ng の濃度でウェル当たり 1 μ l のリポフェクタミン 2000 を形質移入した。上清を形質移入後、24 時間、48 時間、72 時間で採取し、G-C S F および第 I X 因子の発現を E L I S A により測定し、結果を表 54 に示す。mRNA 中の miR-122 結合部位の配列は、初代肝細胞の第 I X 因子タンパク質の発現を減衰させた。

表 54. 肝細胞の G-C S F 発現

【表 0 0 5 4】

記述	タイムポイント	初代ヒト肝細胞	初代ヒト肝細胞
		タンパク質発現 (ng/ml) Mm 3'UTR	タンパク質発現(ng/ml) Hs 3'UTR
G-CSF	24 時間	43.9	84.9
	48 時間	18.8	100.4
	72 時間	5.7	21.3
G-CSF miR122	24 時間	6.9	24.0
	48 時間	.7	3.03
	72 時間	.12	.88
G-CSF種	24 時間	48.5	115.8
	48 時間	25.6	96.4
	72 時間	8.2	19.2
G-CSF種なし	24 時間	31.7	113.1
	48 時間	11.7	92.9
	72 時間	3.4	18.9
FIX	24 時間	90.8	63.2
	48 時間	159.6	124.8
	72 時間	70.5	44.3
FIX mir122	24 時間	11.8	15.9
	48 時間	5.0	4.4
	72 時間	1.0	.4
FIX種	24 時間	77.2	60.2
	48 時間	115.0	63.0
	72 時間	41.7	20.1
FIX種なし	24 時間	69.3	53.7
	48 時間	123.8	75.0
	72 時間	49.0	24.5

10

20

【1 1 2 0】

実施例 59. 癌細胞に m i r - 1 2 2 配列を有する修飾された核酸の時間経過

A. m i R - 1 2 2 のベースレベル

ヒト肝細胞、ラット肝細胞、ヒト肝細胞癌細胞 (H E P 3 B) および H e L a 細胞の m i r - 1 2 2 の基準レベルは、製造業者のプロトコルを使用して、T A Q M A N (登録商標) 分析により決定した。レベルを U 6 に正規化し、その結果を表 5 5 に示す。

表 5 5. 様々な細胞型の m i R - 1 2 2 レベル

【表 0 0 5 5】

細胞型	miR-122レベル(U6に正規化)
ヒト肝細胞	16.8
ラット肝細胞	10.9
H E P 3 B	0
HeLa	0

40

【1 1 2 1】

B. 初代ヒト肝細胞および H E P 3 B 細胞

初代ヒト肝細胞を、100 μ l の細胞培養培地中にウェルあたり 50, 000 細胞の密度で播種した (i n v i t r o G R O C P および I n V i t r o G R O H I 培地 + 2. 2 % T o r p e d o A n t i b i o t i c M i x) および H E P 3 B 細胞を、100 μ l の細胞培養培地 MEM + 10 % F B S でウェルあたり 20, 000 細胞の密度で播種した。3' U T R に m i R - 1 2 2 配列を有さない G - C S F m R N A (G - C S F、配列番号 7 3 2 0 に示されるマウス 3' U T R m R N A 配列、配列には示されて

50

いない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)、3'UTRにmiR-122配列を有するG-CSF mRNA (G-CSF miR122、配列番号7322に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)、3'UTRにmiR-122の種配列を有するG-CSF mRNA (G-CSF種、配列番号7323に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)または3'UTRに種配列のないmiR-122配列を有するG-CSF mRNA (G-CSF種なし、配列番号7324に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)を6ウェルプレートにウェルあたり75 ngのmRNAの濃度で、ウェルあたり0.3 μlのリポフェクタミン2000を形質移入した。上清を形質移入後、24時間、48時間、72時間で採取し、G-CSFの発現をELISAにより測定し、結果を表56に示す。mRNA中のmir-122結合部位の配列は、初代ヒト肝細胞ではG-CSFタンパク質の発現が減衰したが、HEP3B細胞では減衰しなかった。

表56. G-CSF 発現

【表0056】

記述	タイムポイント	初代ヒト肝細胞	HEP3B
		タンパク質発現(ng/ml) Hs 3'UTR	タンパク質発現(ng/ml) Hs 3'UTR
G-CSF	24 時間	76	55
	48 時間	12	33
	72 時間	6	10
G-CSF miR122	24 時間	32	37
	48 時間	1	27
	72 時間	0	6
G-CSF種	24 時間	75	39
	48 時間	11	28
	72 時間	4	6
G-CSF種なし	24 時間	79	49
	48 時間	15	35
	72 時間	6	9

【1122】

実施例60. mir-142 3p配列を有する修飾された核酸の時間経過

【1123】

A. miR-143 3pのベースレベル

【1124】

RAW264.7細胞およびHeLa細胞のmiR-142 3pのベースレベルは、製造業者のプロトコルを使用して、TAQMAN (登録商標) 分析により決定した。レベルをU6に正規化し、その結果を表57に示す。

表57. 種々の細胞型におけるmiR-142 3pのレベル

10

20

30

40

【表 0057】

細胞型	miR-122レベル(U6に正規化)
ヒト肝細胞	16.8
ラット肝細胞	10.9
HEP3B	0
HeLa	0

【1125】

10

B. HeLaおよびRAW264.7細胞

HeLa細胞を、100μlの細胞培養培地DMEM+10%FBSに、ウェル当たり17,000の密度で播種し、RAW264.7細胞を100μlの細胞培養培地DMEM+10%FBSに、ウェル当たり200,000密度で播種した。3'UTRにmiR-142 3p配列を有さないG-CSF mRNA (G-CSF、配列番号7522に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)、3'UTRにmiR-142 3p配列を有するG-CSF mRNA (G-CSF miR-142 3p、配列番号7523に示すmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)、3'UTRにmiR-142 3pの種配列を有するG-CSF mRNA (G-CSF種、配列番号7524に示すmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)または3'UTRに種配列のないmiR-142 3p配列を有するG-CSF mRNA (G-CSF種なし、配列番号7525に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾)を、HeLaについては、96ウェルプレート中、ウェルあたり75ngのmRNA濃度で、ウェル当たり0.3μlのリポフェクタミン2000を播種し、または、RAW264.7については、24ウェルプレート中、ウェルあたり250ngのmRNA濃度で、ウェル当たり1μlのリポフェクタミン2000を播種した。上清は形質移入後、16~18時間の間に収集し、G-CSFの発現をELISAにより測定し、結果を表58に示す。G-CSFのmiR-142 3p部位が、RAW264.7細胞ではG-CSFの発現を下方制御することが示された。

20

30

表58. 発現

【表 0058】

記述	HeLa タンパク質発現(ng/ml)	RAW264.7 タンパク質発現(ng/ml)
G-CSF	243.5	124.8
G-CSF miR142 3p	309.1	42.8
G-CSF種	259.8	148.1
G-CSF種なし	321.7	185.2

40

【1126】

C. RAW264.7細胞の時間経過

RAW264.7細胞を、100μlの細胞培地(DMEM+10%FBS)中、ウェルあたり60,000細胞の密度で播種した。3'UTRにmiR-142 3p配列を有さないG-CSF mRNA (G-CSF、配列番号7522に示されるmRNA配列

50

、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾)、3'UTRにmiR-142 3p配列を有するG-CSF mRNA (G-CSF miR142 3p、配列番号7523に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾)、3'UTRにmiR-142 3pの種配列を有するG-CSF mRNA (G-CSF種、配列番号7524に示すmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾された)または3'UTRも種配列のないmiR-142 3p配列を有するG-CSF mRNA (G-CSF種なし、配列番号7525に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾)を96ウェルプレートに、ウェルあたり75ngのmRNAの濃度で、ウェルあたり0.3μlのリポフェクタミン2000を形質移入した。上清を形質移入後、24時間、48時間、72時間で採取し、G-CSFの発現をELISAにより測定し、結果を表59に示す。mRNA中のmiR-142 3p結合部位配列は、経時的に、RAW264.7細胞のG-CSFの強力な発現を抑制することを示した。

表59. G-CSF発現

【表0059】

記述	タイムポイント	RAW264.7細胞
		タンパク質発現(ng/ml)
G-CSF	24 時間	133.5
	48 時間	69.7
	72 時間	2.1
G-CSF miR142 3p	24 時間	60.1
	48 時間	9.2
	72 時間	.3
G-CSF種	24 時間	244.9
	48 時間	68.9
	72 時間	2.3
G-CSF種なし	24 時間	250.2
	48 時間	95.9
	72 時間	3.0

【1127】

D. PBMCのmiR-142 3p

末梢血単核細胞(PBMC)を100μlの細胞培養培地中のウェルあたり150,000細胞の密度で播種した(Opti-MEMおよび形質移入後10%FBSを追加)。3'UTRにmiR-142 3pの配列を有するG-CSF mRNA (G-CSF miR142 3p、配列番号7523に示されるmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾)、3'UTRにmiR-142 3pの種配列を有するG-CSF mRNA (G-CSF種、配列番号7524に示すmRNA配列、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾)または3'UTRに種配列がないmiR-142 3pを有するG-CSF mRNA (G-CSF種なし、配列番号7525に示されるmRNA、配列には示されていない約140ヌクレオチドのポリA尾部、5'キャップ、キャップ1、5-メチルシトシンおよび1-メチルプソイドウリジンで完全修飾)を、2つまたは3つのドナーのために、96ウェルプレート中のウェルあたり500ngのmRNAの濃度で、ウェルあたり0.4μlのリポフェ

クタミン2000を3つ組で形質移入した。上清を形質移入後24時間で回収し、G-CSFの発現は、ELISAによって測定した。2つのドナーについての結果を、表60に示し、3つのドナーについての結果を表61に示す。mRNA中のmiR-142 3p結合部位配列は、ヒトPBMCでG-CSFの発現を下方制御することを示した。

表60. PBMC発現(2つのドナー)

【表0060】

記述	タンパク質発現(ng/ml)
G-CSF miR142 3p	5.09
G-CSF種	10.06
G-CSF種なし	9.38

10

表61. PBMC発現(3つのドナー)

【表0061】

記述	タンパク質発現(ng/ml)
G-CSF miR142 3p	7.48
G-CSF種	13.40
G-CSF種なし	13.98

20

【1128】

その他の実施形態

使用されている言葉は、説明するためにあり、限定するものではなく、そのより広い態様で、本発明の真の範囲および精神から逸脱することなく、変更が添付の特許請求の範囲内でなされ得ることを理解されたい。

30

【1129】

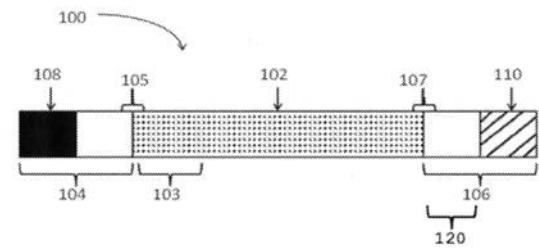
本発明は、いくつかの記載の実施形態に関して、いくつかの長さで、いくつかの具体性をもって説明してきたが、任意の詳細または実施形態または特定の実施形態に限定されることを意図せず、先行技術の観点で当該請求項を可能な限り広く解釈するため、したがって、本発明の意図する範囲を効果的に包含するために、添付の特許請求の範囲を参照して解釈されるべきものである。

【1130】

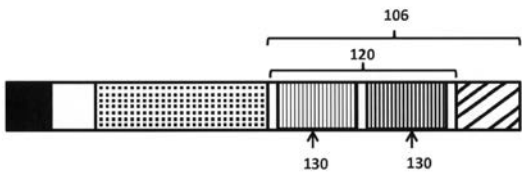
本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献は、参照によりその全体が組み込まれる。矛盾する場合、定義を含む本明細書が制御する。さらに、セクションの見出し、材料、方法、および実施例は単なる例示であり、限定することを意図するものではない。

40

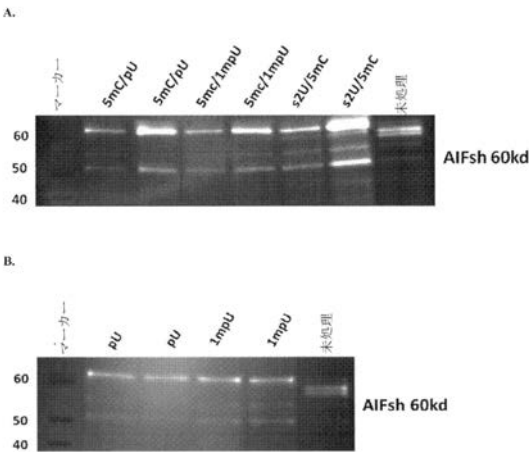
【 図 1 】



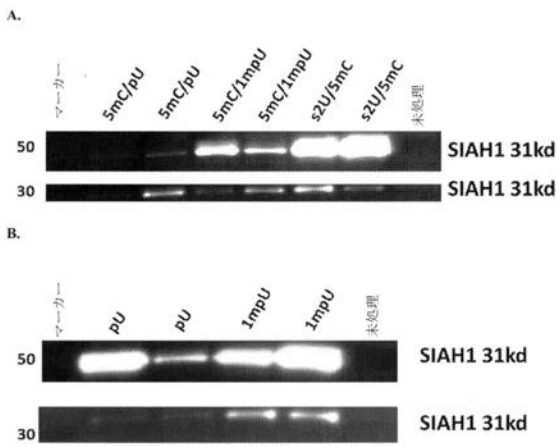
【 図 2 】



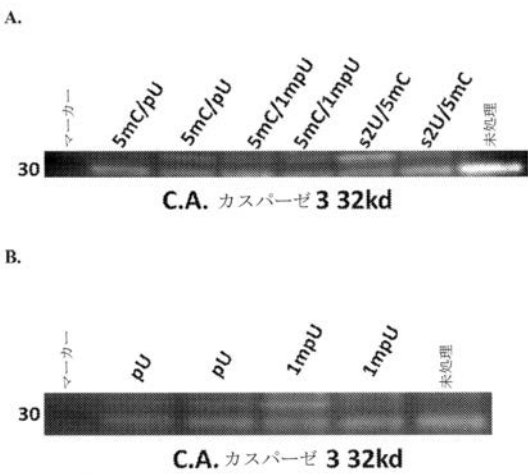
【 図 3 】



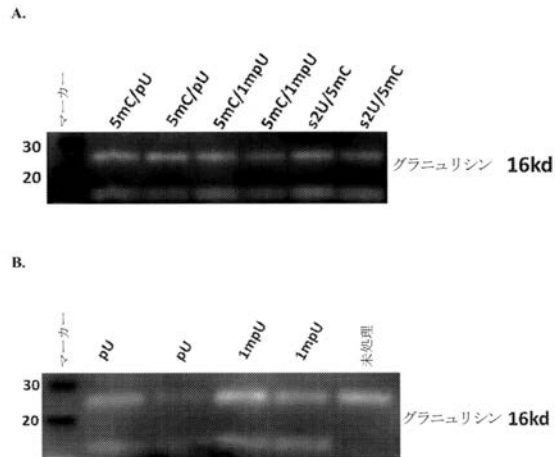
【 図 4 】



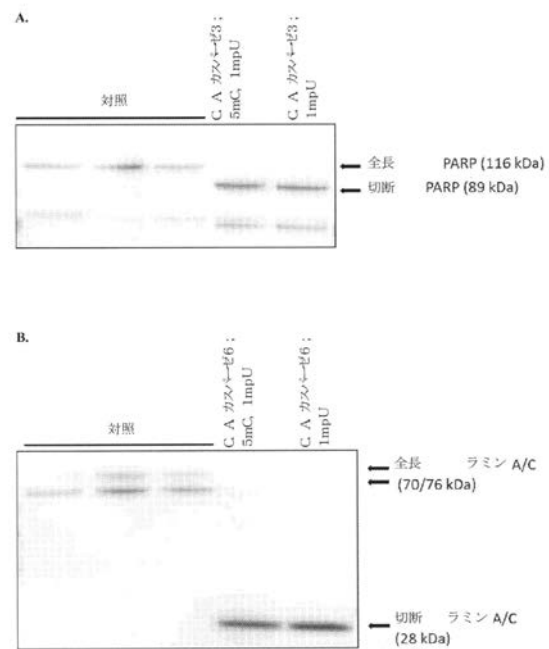
【 図 5 】



【図 6】



【図 7】



【配列表】

2017113010000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成29年2月14日(2017.2.14)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

(i) S i a h E 3 ユビキチンタンパク質リガーゼ1 (S I A H 1) のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と、

(i i) m i R - 1 2 2 結合部位と、を含み、

前記m i R - 1 2 2 結合部位が、m i R - 1 2 2 と完全な相補性を有する、ポリヌクレオチド。

【請求項2】

前記m i R - 1 2 2 結合部位が、m i R - 1 2 2 - 3 p 結合部位、またはm i R - 1 2 2 - 5 p 結合部位を含む、請求項1に記載のポリヌクレオチド。

【請求項3】

前記m i R - 1 2 2 結合部位が、配列番号3592または配列番号3587で表される配列を含む、請求項1または2に記載のポリヌクレオチド。

【請求項4】

前記ヌクレオチド配列が、m R N Aである、請求項1～3のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 5】

前記ポリヌクレオチドのうちの少なくとも 1 つの核酸が、化学的に修飾されている、請求項 4 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 6】

前記少なくとも 1 つの化学修飾された核酸が、5-メチルシチジン、2-チオウリジン、シュードウリジン、1-メチルシュードウリジン、1-カルボキシメチル-シュードウリジン、1-プロピニル-シュードウリジン、1-タウリノメチル-シュードウリジン、1-タウリノメチル-4-チオ-シュードウリジン、1-メチル-シュードウリジン ($m^1\psi$)、1-メチル-4-チオ-シュードウリジン ($m^1s^4\psi$)、4-チオ-1-メチル-シュードウリジン、3-メチル-シュードウリジン ($m^3\psi$)、2-チオ-1-メチル-シュードウリジン、1-メチル-1-デアザ-シュードウリジン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-シュードウリジン、ジヒドロシュードウリジン、2-チオ-ジヒドロシュードウリジン、2-メトキシウリジン、2-メトキシ-4-チオ-ウリジン、4-メトキシ-シュードウリジン、4-メトキシ-2-チオ-シュードウリジン、N1-メチル-シュードウリジン、1-メチル-3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)シュードウリジン ($acp^3\psi$)、2'-O-メチル-シュードウリジン (ψm)、およびこれらの任意の組合せからなる群から選択される、請求項 5 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 7】

前記ポリヌクレオチドの 25～100% のウリジンが化学修飾されている、請求項 5 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 8】

S i a h E3 ユビキチンタンパク質リガーゼ 1 (S I A H 1) のポリペプチドをコードする m R N A を含むポリヌクレオチドであって、前記 m R N A の 25～100% のウリジンが化学修飾されている、ポリヌクレオチド。

【請求項 9】

前記ポリヌクレオチドの 100% のウリジンがシュードウリジンに化学修飾されている、請求項 5～8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 10】

前記ポリヌクレオチドの 100% のウリジンがシュードウリジンに化学修飾されているとともに、前記ポリヌクレオチドの 100% のシチジンが 5-メチルシチジンに化学修飾されている、請求項 5～9 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 11】

前記ポリヌクレオチドの 100% のウリジンが 1-メチルシュードウリジンに化学修飾されている、請求項 5～8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 12】

前記ポリヌクレオチドの 100% のウリジンが 1-メチルシュードウリジンに化学修飾されているとともに、前記ポリヌクレオチドの 100% のシチジンが 5-メチルシチジンに化学修飾されている、請求項 5～8 および 11 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 13】

前記ポリヌクレオチドの 25% のウリジンが 2-チオウリジンに化学修飾されているとともに、前記ポリヌクレオチドの 25% のシチジンが 5-メチルシチジンに化学修飾されている、請求項 5～8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 14】

5' 末端キャップ、5' 非翻訳領域 (5' U T R)、3' 非翻訳領域 (3' U T R)、3' 尾部配列、またはこれらの任意の組合せをさらに含む、請求項 1～13 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 15】

前記ポリヌクレオチドが 3' U T R を含み、前記 m i R-122 結合部位が前記 3' U T R に位置する、請求項 14 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 16】

前記ポリヌクレオチドが 5' UTR を含み、前記 5' UTR が、配列番号 1 ～ 4 からなる群から選択される配列、またはこれらの任意の組合せを含む、請求項 14 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 17】

S I A H 1 のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列が、配列番号 6 6 1 8 で表される m R N A 配列を含む、請求項 1 ～ 16 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 18】

請求項 1 ～ 17 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドと薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物。

【請求項 19】

前記ポリペプチドが、リピドイド、リボソーム、リボプレックス、脂質ナノ粒子、ポリマー化合物、ペプチド、タンパク質、細胞、ナノ粒子模倣体、ナノチューブ、複合体、またはこれらの任意の混合物と、送達のために製剤化されている、請求項 18 に記載の薬学的組成物。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード (参考)
A 6 1 P 35/02 (2006.01) A 6 1 P 35/02

(31)優先権主張番号 61/829,334

(32)優先日 平成25年5月31日(2013.5.31)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 61/839,893

(32)優先日 平成25年6月27日(2013.6.27)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 61/842,733

(32)優先日 平成25年7月3日(2013.7.3)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 61/857,304

(32)優先日 平成25年7月23日(2013.7.23)

(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 ホーグ、スティーブン ジー.

アメリカ合衆国 1 0 0 6 5 ニューヨーク州 ニューヨーク イースト シックスティサード
ストリート 2 5 0 ナンバー 2 1 ディ

(72)発明者 チャクラボルティ、ティルタ

アメリカ合衆国 0 2 1 5 5 マサチューセッツ州 メドフォード ウォバーン ストリート 1
5 3

(72)発明者 フレデリック、ジョシュア ピー.

アメリカ合衆国 0 2 1 1 4 マサチューセッツ州 ボストン ガーデン ストリート 4 1 ア
パートメント 5

(72)発明者 ジョン、マティアス

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ ハーバード ストリート 3
3 8 ナンバー 5

(72)発明者 ドゥ フジェローレ、アントニン

ベルギー国 B-1 4 1 0 ワーテルロー アベニュー ネプテューヌ 1 5

Fターム(参考) 4C084 AA13 NA14 ZB262 ZB272

4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA01 MA04 NA14 ZB26 ZB27

【外国語明細書】
2017113010000001.pdf